

**Valoración del daño renal producido por
el neumoperitoneo en un modelo
experimental.**

**Ana Celma Domènech
Servicio de Urología
Hospital Vall d'hebrón
Facultad de Medicina
Universidad Autónoma de Barcelona**

**Directores:
Dr. Juan Morote Robles
Dr. Carles Xavier Raventós i Busquets**

El **Dr. Juan Morote Robles**, profesor titular del Departamento de Cirugía de la Facultad de Medicina de la Universidad Autònoma de Barcelona, y el **Dr. Carles Raventós i Busquets**, médico adjunto del Servicio de Urología del Hospital Vall d'Hebrón

CERTIFICAN,

que el trabajo titulado **“Valoración del daño renal producido por el neumoperitoneo en un modelo experimental”**, se ha realizado bajo su dirección y reúne los requisitos científicos necesarios para ser defendido como tesis doctoral.

Y para que así conste, firman este certificado

Barcelona, a

Juan Morote Robles

Carles Xavier Raventós i Busquets

Agradecimientos

En primer lugar me gustaría expresar mi agradecimiento al Dr. Morote y al Dr. Raventós por su apoyo para hacer posible el llevar a cabo este proyecto.

También quisiera agradecer a la Dra. Marta Rosal y Marielle Esteves (S. Veterinaria), Dra. Anna Messeguer, Dr. Joan López y Dra. Marta Riera (S. Investigación Básica), y Dra. Inés de Torres (S. Anatomía Patológica), su colaboración, su enorme paciencia y generosidad. Ya que han puesto toda su dedicación para enseñarme parte de sus conocimientos, lo cual no ha sido una tarea fácil.

Al Dr. Abascal Junquera por su constante ayuda y por ser una motivación para concluir este proyecto.

Al Dr. Enrique Trilla Y Dr. Jacques Planas por ser dos grandes maestros y amigos, que siempre están cuando los necesitas, y consiguen que quieras superarte como profesional y como persona.

Expresar mi agradecimiento una vez más a Carme Mir y Joan Bestard, porque sin ellos no hubiera sido posible completar este trabajo ni tantos otros.

También quisiera agradecer al resto de componentes del Servicio de Urología su extraordinaria implicación en mi formación durante los años que hemos compartido.

Índice

1. Introducción	7
1.1: Trasplante renal	7
1.2: Trasplante renal de donante vivo	11
1.2.1: Selección del donante y del órgano	13
1.2.2: Intervención de la cirugía laparoscópica	18
1.2.2.1: <i>Nefrectomía laparoscópica de donante vivo. Técnica quirúrgica ..</i>	<i>21</i>
1.2.2.2: <i>Ventajas sobre la vía abierta</i>	<i>23</i>
1.2.2.3: <i>Inconvenientes de la extracción laparoscópica</i>	<i>25</i>
1.2.2.4: <i>Efectos conocidos del neumoperitoneo</i>	<i>28</i>
1.2.2.5: <i>Complicaciones quirúrgicas</i>	<i>32</i>
1.2.2.6: <i>Complicaciones no quirúrgicas del donante</i>	<i>34</i>
1.3: Valoración de la viabilidad del injerto pretrasplante	37
1.3.1: Datos Anátomo-Patológicos	38
1.3.2: Datos bioquímicos	42
1.3.3: Valoración de resistencias vasculares	43
1.4: Efectos de la isquemia en el implante	45
1.5: Extracción laparoscópica y evolución del injerto	49
1.6: Valoración evolución del injerto postrasplante	52
1.6.1: Parámetros bioquímicos	53
1.6.2: Parámetros anatomopatológicos	54
1.6.3: Papel del género en el daño renal y su reparación	54
1.7: Nuevos marcadores posibles de viabilidad renal	57
1.7.1: Malondialdehído (MDA)	58
1.7.2: kidney injury molecule-1 (Kim-1)	60
1.8: Justificación del proyecto y el papel de la extracción por laparoscopia a nivel del daño renal	65
 2. Hipótesis	 66

3. Objetivos	67
3.1 Objetivo primario	67
3.2 Objetivos secundarios	67
 4. Material y métodos	 69
4.1: Material	69
4.1.1: Infraestructura y aparataje de quirófano	69
4.1.2: Animales de experimentación	69
4.1.3: Justificación del modelo animal y aspectos éticos	70
4.2: Método	72
4.2.1: Diseño experimental	72
4.2.2: Protocolo quirúrgico y anestésico	73
4.2.2.1: <u>Preoperatorio</u>	73
4.2.2.2: <u>Anestesia</u>	74
4.2.2.3: <u>Ventilación</u>	75
4.2.2.4: <u>Canulación</u>	75
4.2.2.5: <u>Monitorización</u>	76
4.2.2.6: <u>Cirugía</u>	76
4.2.2.7: <u>Postoperatorio</u>	81
4.2.2.8: <u>Trasplantectomía</u>	81
4.2.3: Recogida de muestras	82
4.2.3.1: <u>Muestras sanguíneas</u>	82
4.2.3.2: <u>Muestras tisulares</u>	82
4.2.4: Análisis de las muestras	84
4.2.4.1: <u>Análisis de las muestras sanguíneas</u>	84
4.2.4.2: <u>Análisis de las muestras tisulares</u>	85
4.2.5: Medidas correctoras y de punto final	95
4.2.6: Cronograma del experimento	96
4.2.7: Estudio estadístico	97
 5. Resultados	 98
5.1: Características de la muestra	98

5.2: Número de experimentos y supervivencia	100
5.3: Resultados quirúrgicos y evolución	103
5.4: Resultados del daño tisular	107
5.4.1: Valoración del daño tubular	107
5.4.2: Valoración del infiltrado intersticial	111
5.5: Resultados de la valoración del estrés oxidativo	112
5.5.1: Valoración de las cifras de MDA en suero	112
5.5.2: Valoración de las cifras de MDA en tejido	112
5.6: Resultados de la valoración de KIM-1 en tejido	114
5.7: Resultados de recuperación funcional	116
 6. Discusión	 122
6.1: Repercusión anatomopatológica	126
6.2: Repercusión en el estrés oxidativo celular y cuantificación de MDA.	128
6.3: Repercusión del estrés oxidativo celular y producción de Kim-1.	130
6.4: Evolución funcional del injerto.	132
6.5: Influencia del género	135
 7. Conclusiones	 139
 8. Referencias bibliográficas	 139
 9. Anexos	 170
9.1: Índice de abreviaturas	170
9.2: Índice de Figuras	171
9.3: Índice de Imágenes	171
9.4: Índice de Gráficos	173
9.5: Índice de Tablas	175
9.6: Documentación propia del estudio	176

1. Introducción

1.1: Trasplante renal

Durante la segunda mitad del siglo XX, se han ido desarrollando diferentes modalidades de tratamiento sustitutivo para la insuficiencia renal crónica terminal (IRCT), como la diálisis o el trasplante renal.

El trasplante renal, es la mejor opción para estos pacientes, ya que les permite mantener un estilo de vida sin depender de las máquinas de diálisis, y sin las complicaciones derivadas de estos tratamientos. Además, mejora la expectativa de vida en los pacientes con IRCT, y disminuye el coste del tratamiento en comparación con la hemodiálisis (Azar et al, 2007).

España, es uno de los países con mayor número de donaciones de órganos, en torno a 33 donantes por millón de habitantes (Gráfico 1). En Cataluña, en 2006, hubo 217 donantes cadáver viables y 66 riñones procedentes de donante vivo (Tabla 1). Esto se traduce en un alto número de implantes renales al año.

Grafico 1: Actividad de donación y trasplante en Cataluña. Datos 2004 y 2005

www.OCATT.net

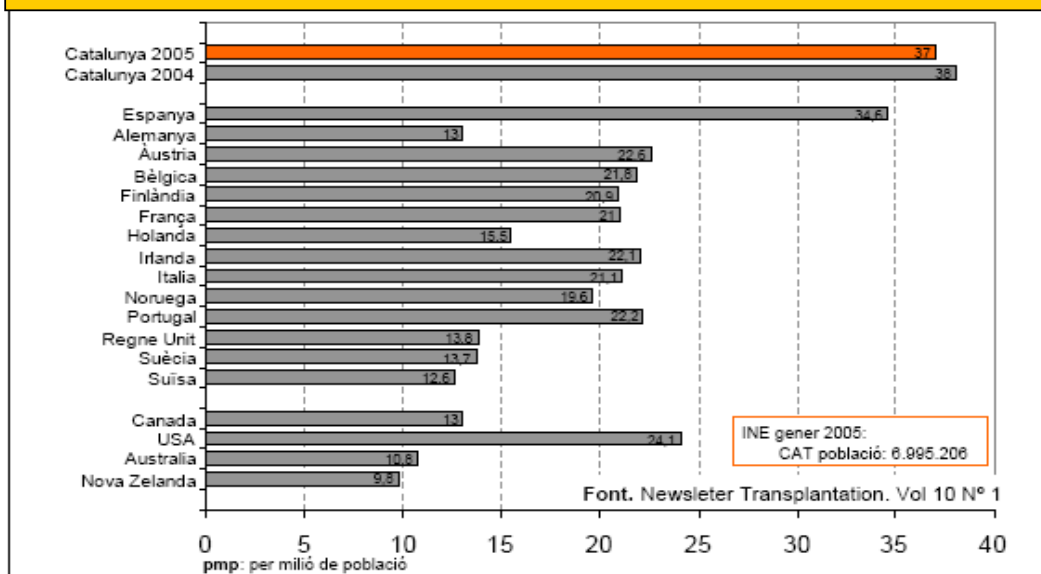
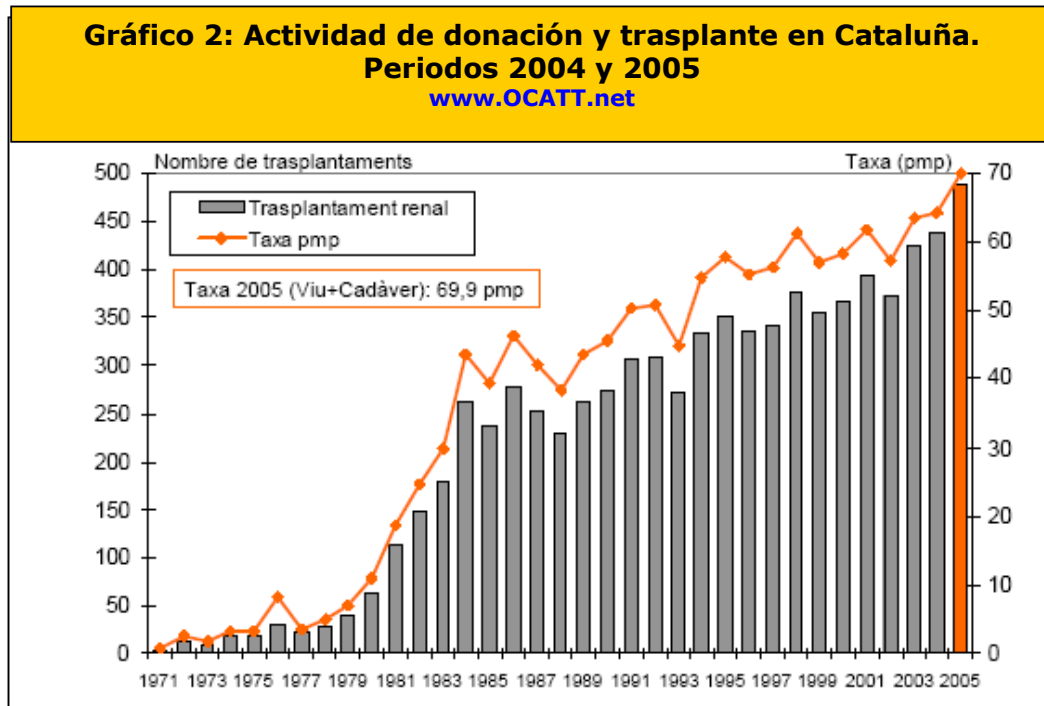


Tabla 1: Evolución de la actividad de donación en Cataluña. Período 1999-2006

www.gencat.net/catsalut/ocatt/es/htm/index.htm

Año	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006
Donantes válidos	225	247	249	232	241	259	259	217
Donantes renales vivos	-	-	-	-	45	36	53	66

Desde la década de los años 80, la donación de órganos ha ido aumentando exponencialmente como se refleja en el Gráfico 2.



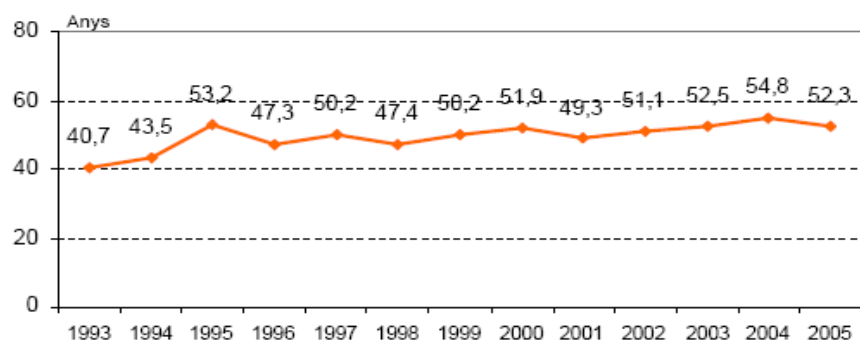
La edad media de los donantes cadáver también ha ido aumentando progresivamente (Gráfico 3). Este aumento de la edad de los donantes, sumado al tiempo de isquemia al que son sometidos, son factores que influyen en el posterior funcionamiento de los mismos. Por esto, es especialmente importante, adecuar la edad del donante a la del receptor, así como disminuir al mínimo el tiempo de isquemia.

Por otra parte, la generación de órganos para trasplantes de riñón de cadáver, ha sufrido un cambio espectacular. De los

procedentes de traumatismos craneoencefálicos, en su mayoría de personas jóvenes, que cada día están en descenso debido a las medidas de prevención de accidentes de tráfico. Se ha pasado, mayoritariamente, a donantes añosos y en ocasiones de edad muy avanzada, y cuyo denominador común como causa de la muerte, es un accidente cerebrovascular (Serrallach et al, 2001).

Gráfico 3: Evolución de la edad media de los donantes válidos mayores de 15 años. Periodo 1993-2005

www.OCATT.net



1.2: Trasplante renal de donante vivo

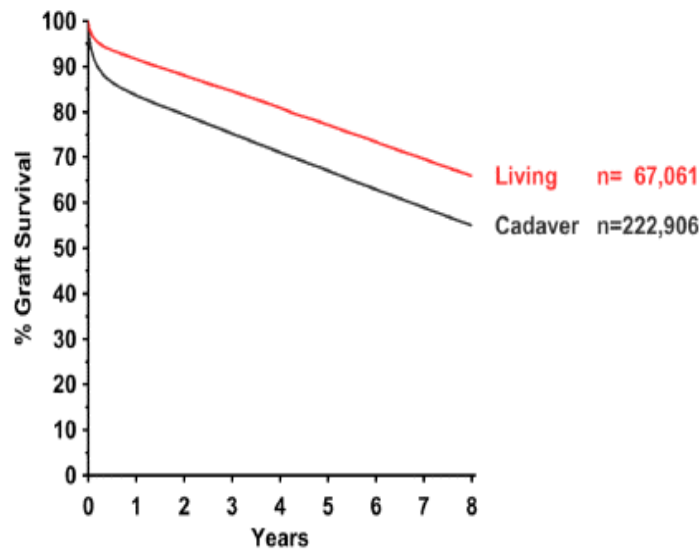
Durante la última década, los trasplantes de donante vivo están experimentando un aumento general. En muchos países, los riñones que provienen de donantes vivos suponen la mayor parte de las donaciones, ya que el número de donantes cadáver permanece estable, pero con el aumento de la esperanza de vida aumenta el número de pacientes con IRCT en diálisis en espera de un trasplante (Azar et al, 2007; Brown et al, 2001).

Aunque España sigue siendo el país con mejor índice de donaciones por millón de habitantes, el porcentaje de órganos de donantes vivos es menor del 10% según los datos de la Organización Nacional de Trasplantes (ONT) en 2002 (www.msc.es/ont/esp/ont.htm), por debajo de países como EEUU donde suponen un 18%, o Noruega donde alcanzan un 40% (Burgos et al, 2002).

Los trasplantes a partir de riñones de un donante vivo, presentan mejores resultados que los de cadáver, tanto a nivel funcional como de supervivencia del injerto (Oppenheimer F, 2005; Azar et al, 2007; Siebels et al, 2003; Brown et al, 2001) como se refleja en el Gráfico 4. Los resultados de supervivencia del órgano son en general excelentes, y superiores a los procedentes de donante cadáver a los diez años en 17-20%, así como de supervivencia del paciente (Martín and Errasti, 2006). Aunque hay otros estudios que apuntan a

que la supervivencia del injerto es similar que la de donante cadáver (Park et al, 2004).

Gráfico 4: Supervivencia del injerto entre los donantes vivo y cadáver según datos de la Sociedad Europea de Nefrología y Trasplante renal



CTS Collaborative Transplant Study

K-15001-0807

Diversos autores afirman que los buenos resultados obtenidos de los injertos de donante vivo, se deben a que es una técnica segura tanto para el donante como para el receptor, presenta un tiempo mínimo de isquemia templada, y se hace una extracción atraumática del riñón; preservando adecuadamente el uréter y conservando toda su vascularización. Todo ello influye en que inicie en muchos casos su

función de manera inmediata y sin complicaciones (Brown et al, 2001; Novick AC, 1999; Fabricio et al, 1999).

En la tabla 2 se recogen las ventajas del trasplante de donante vivo.

Tabla 2: Ventajas del trasplante renal con donante vivo
<ul style="list-style-type: none">• Superior supervivencia del injerto a corto, medio y largo plazo con respecto a la del trasplante con donante cadáver.• Superior supervivencia del receptor.• La realización programada del trasplante, de forma simultánea con la nefrectomía, permite optimizar las condiciones de donante y receptor, así como disminuir al mínimo el tiempo de isquemia y, con ello, el daño secundario a los fenómenos de isquemia-reperusión.• La función inicial de los injertos de donante vivo es mejor: 90% de buena función inicial sin necesidad de diálisis, frente al 75% de media en los trasplantes de donante cadáver (la función retrasada del injerto después del trasplante es un reconocido factor pronóstico negativo para la supervivencia del injerto).• Menor incidencia de rechazo después del trasplante renal de vivo y, por ello, menores necesidades de fármacos para la prevención del rechazo.• Eliminación de la espera, pues puede realizarse de forma programada incluso antes de la entrada en diálisis.

1.2.1: Selección del donante y del órgano

El principal aspecto en cuanto a la donación es la correcta selección del donante.

• En primer lugar, **el donante ha de estar bien informado** sobre los procedimientos y los riesgos, y ha de ser una persona sana. Para asegurar este punto, se realizarán una serie de visitas en las que se le irá informando, y se le realizarán una serie de estudios como se indica en la tabla 3.

Tabla 3: Consideraciones para la selección de donantes en visitas sucesivas (tomado de Gutiérrez-Dalmau et al, 2005)	
• Información general sobre el procedimiento	
• Historia clínica y exploración física completas	
• Exploraciones complementarias - Análisis sanguíneo y de orina completos - Estudio inmunológico: Grupo sanguíneo, tipaje HLA, y prueba cruzada donante-receptor - Despistaje de enfermedades infecciosas (Virus hepatitis B y C, HIV, HTLV, CMV, Toxoplasma, Sífilis, VEB, PPD) y marcadores tumorales si procede - Preoperatorio completo - Estudio anatómico: angioTC, angioRM.. - Otras exploraciones: Ecocardiograma, pruebas funcionales respiratorias (si procede)	
• Valoración psicológica	
• Visita preanestésica	
• Cross-match definitivo	
• Presentación ante el Comité de Ética Asistencial	
• Presentación ante el Registro Civil	

En función del riesgo quirúrgico que presenten los posibles donantes se contraindicará la donación. Se han establecido una serie de parámetros predictivos de riesgo que se reflejan en la tabla 4.

En general, la presencia de parámetros predictivos mayores o intermedios, contraindica la donación. Mientras que los menores, exigen de una consideración individualizada del riesgo y la aceptación del donante sólo en casos muy seleccionados, ya que cualquier pequeño aumento del riesgo puede ser difícilmente justificado en el trasplante de donante vivo (Gutiérrez-Dalmau A et al 2005).

Tabla 4: Predictores del aumento del riesgo quirúrgico (tomado de Gutiérrez-Dalmau A et al 2005)
<i>Mayores</i> Síndrome coronario Insuficiencia cardíaca descompensada Arritmia cardíaca significativa Enfermedad vascular severa
<i>Intermedios</i> Angina estable Antecedentes de infarto agudo de miocardio Insuficiencia cardíaca compensada Diabetes Mellitus
<i>Menores</i> Edad avanzada (>60 años) Electrocardiograma alterado o ritmo cardíaco no sinusal Baja capacidad funcional cardíaca Antecedentes de accidente vascular cerebral Hipertensión arterial no controlada

- En cuanto a la elección del riñón, en primer lugar se valora que los riñones **no presenten alteraciones**, y el **número de vasos**. Si los riñones presentan algún defecto que pueda comprometer la función renal del donante o del receptor en un futuro, queda descartada la donación.

Por norma general se escoge para el implante el riñón izquierdo ya que la vena es de mayor longitud. En el caso que uno de los riñones presente más de un vaso, la tendencia general es elegir el que sólo tiene una arteria y una vena para facilitar tanto la extracción como el implante (Desai et al, 2007; Gürkan et al, 2004).

El grupo de Hsu, publicaron en 2003 un trabajo en el que de 353 extracciones laparoscópicas de donante vivo, en el 78.5% encontraron una sola arteria renal, en un 20.1% de los casos encontraron 2, y en un 1.4% encontraron 3 arterias renales. Valoraron el tiempo quirúrgico y el de isquemia caliente, demostrando que aumentaban con respecto al número de vasos encontrados, pero sin hallar diferencias estadísticamente significativas. Otros parámetros que valoraron fueron la pérdida sanguínea, el tiempo de ingreso hospitalario, la supervivencia del injerto a un año, o los niveles de creatinina durante el postoperatorio inmediato y al año, sin hallar en ninguno de estos parámetros diferencias entre los grupos (Hsu et al, 2003). Existen otros autores que pese a encontrar un pedículo vascular múltiple en el lado

izquierdo, no han encontrado en sus series diferencias estadísticamente significativas en las complicaciones vasculares durante el postoperatorio, ni en el tiempo de isquemia caliente entre los riñones con pedículo normal con respecto a los que presentan múltiples vasos (Hsu et al, 2003; Troppmann et al, 2001; Johnston et al, 2001).

- También es importante **adecuar el donante al receptor**, tanto en edad como en masa renal.

Para el transplante renal es conocido que tanto la edad del donante, como el tamaño del riñón son importantes para obtener una correcta función del injerto.

Adecuar el **tamaño del riñón** al tamaño del receptor es importante para un correcto funcionamiento posterior. El número de nefronas presenta una buena correlación con el tamaño del riñón, y una correlación negativa con la edad del donante (Brenner et al, 1992; Kwon et al, 2005).

Las mujeres, en general tienen unos riñones un 17% más pequeños que los de los varones. Como varios trabajos demuestran, los resultados de los trasplantes de donantes mujeres a receptores varones, en general son peores, ya que estos riñones son entre un 10 y un 20% más pequeños (Nicholson et al, 2000; Kwon et al, 2005).

La **edad del donante** también es un indicativo de su función renal; y este hecho se agrava con la isquemia fría. La necrosis tubular aguda es mucho mayor en donantes de más de 50 años, además, un riñón añoso en un receptor joven puede comprometer la supervivencia del injerto (Busson and Benoit, 1997). Por lo tanto ambos factores, deberían tenerse en cuenta al escoger al receptor.

1.2.2: Intervención de la cirugía laparoscópica

Durante los últimos años ha habido un creciente interés por las técnicas mínimamente invasivas como la laparoscopia, sustituyendo a procedimientos más agresivos por otros con menos morbilidad. La cirugía laparoscópica está experimentando un importante progreso. Se trata de una técnica atractiva por su más rápida recuperación, la disminución de días de hospitalización, así como un beneficio estético para los pacientes.

En el caso de la cirugía urológica, la primera nefrectomía realizada con éxito en un modelo animal, fue descrita por Clayman en 1991 (Clayman et al, 1991). Posteriormente la descripción de una técnica factible en un modelo porcino fue descrita por Gill en 1994 (Gill et al, 1994). En 1995, Ratner describió la primera nefrectomía practicada a un humano (Ratner et al, 1995). Desde ese momento, son múltiples los estudios que se han realizado para perfeccionar esta técnica quirúrgica, y para demostrar los beneficios que posee la laparoscopia respecto a la cirugía abierta convencional. Actualmente

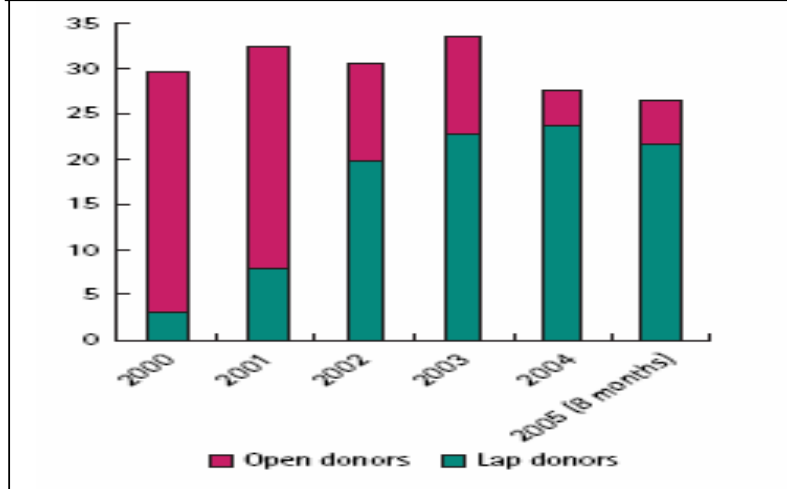
la cirugía laparoscópica se encuentra en un franco crecimiento, y cada vez son más los centros interesados en realizar todo tipo de intervenciones de complejidad creciente por esta técnica. Sin embargo, se trata de una técnica difícil de asimilar y con una prolongada curva de aprendizaje, que requiere una gran inversión tanto económica por parte de los centros, como de tiempo por parte del personal sanitario (Das S, 2001).

Los principales inconvenientes que se describen al iniciarse en esta técnica, son la pérdida de la visión tridimensional, del tacto, la pérdida de la coordinación entre ojos y manos, la imposibilidad de realizar determinados movimientos aprendidos por cirugía abierta, acompañado de que el material que se utiliza actualmente está en constante avance, pero todavía resulta algo limitado para determinados movimientos (Janetschek G, 1998).

No obstante, la cirugía laparoscópica está cobrando cada vez mayor importancia en el caso del trasplante renal, en concreto en la cirugía de donante vivo.

Cada vez son más los grupos que optan por la extracción renal laparoscópica, de forma que esta técnica se está imponiendo a la extracción vía abierta. En 2006, Power presentó una publicación en la que se evidencia la evolución de la utilización de dicha técnica como ilustra el Gráfico 5 (Power et al, 2006).

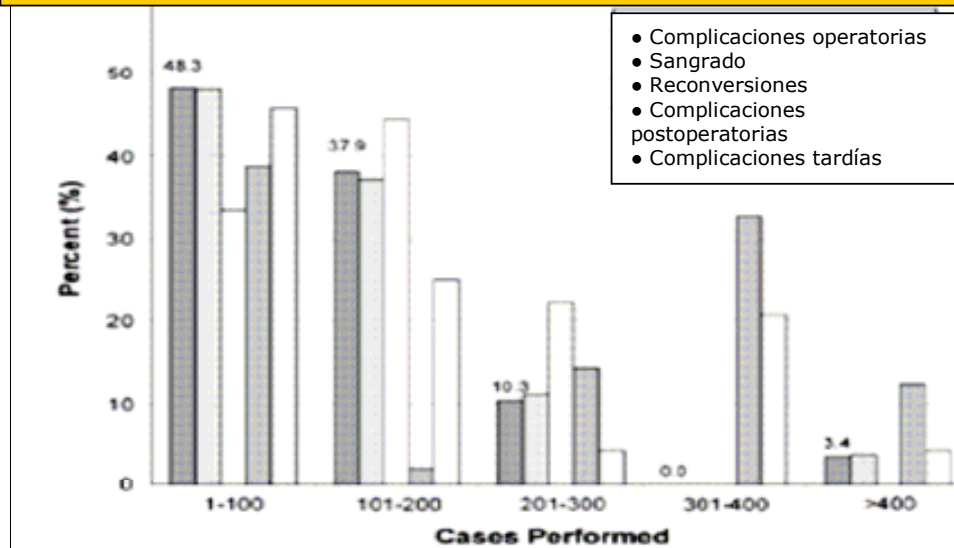
Gráfico 5: Número de nefrectomías por año
(tomado de Power et al, 2006)



Así mismo, cuanto mayor experiencia adquieren los diferentes grupos, es menor el número de complicaciones que presenta la técnica como se refleja en el Gráfico 6.

Grafico 6: Porcentaje de complicaciones y curva de aprendizaje

(tomado de Chin et al, 2007)



1.2.2.1: Nefrectomía laparoscópica de donante vivo. Técnica quirúrgica.

Para la nefrectomía izquierda, el donante se coloca en decúbito lateral derecho, y se inserta el primer trócar bajo visión directa, a través del cual se establece el neumoperitoneo a 15 mm Hg. Se colocan un total de cuatro puertos laparoscópicos como podemos ver en la Figura 1. Tras la decolación, se diseca el uréter teniendo en cuenta la necesidad de dejar un generoso mesouréter para garantizar la correcta irrigación del mismo, posteriormente se clampa y se secciona a nivel de su cruce con los vasos ilíacos. A continuación, se

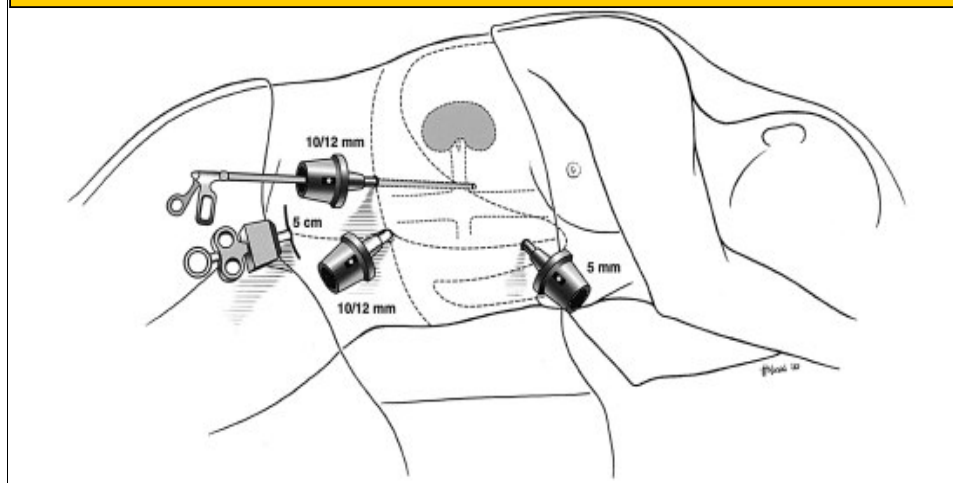
diseca la vena renal, clampando las venas gonadal y suprarrenal, y coagulando vena lumbar que sale posteriormente de la vena renal de una forma constante. De esta forma, se deja la vena renal preparada para su clampaje y sección. Se levanta el polo inferior del riñón, y se diseca la arteria renal hasta su salida de la Aorta. Por último, una vez disecadas arteria y vena, se libera todo el riñón por la cara posterior y polo superior con ayuda de Ligasure® hasta lograr que el riñón sólo penda del pedículo. En este momento, se realiza una incisión de unos 6 centímetros en la línea media periumbilical y se introduce la mano no dominante por dicha incisión rodeando el pedículo con los dedos. Tres minutos antes del clampaje de los vasos renales, se administra 1 mg/Kg de peso de heparina sódica al 1% vía endovenosa. La arteria renal se secciona con tijeras previo doble clampaje con Haemolock®, y la vena se secciona previo clampaje con una endoGia endovascular a nivel proximal de la salida de la vena suprarrenal. Por último el riñón se extrae a través de la incisión de la línea media (Alcaraz et al, 2006).

En nuestro centro la técnica es idéntica, salvo que el clampaje de la vena también se realiza con Haemoloks®.

En la misma, línea Khauli publicó en 2003 un trabajo en el que proponía una serie de modificaciones como disecar el uréter y la vena gonadal en bloque antes de iniciar la disección del pedículo vascular, y por último embolsar el riñón antes *del clampaje vascular para facilitar su extracción* (Khauli et al, 2003).

Figura 1: Colocación del paciente y los trócares para la realización de una nefrectomía laparoscópica en este caso derecha.

(tomado de Alcaraz et al, 2006)



1.2.2.2: Ventajas sobre la vía abierta.

Son numerosos los estudios que demuestran que la técnica laparoscópica presenta menor dolor postoperatorio, una menor estancia hospitalaria, mejora los resultados cosméticos y los donantes tienen una más rápida recuperación a sus actividades normales, con unos resultados funcionales e índice de complicaciones similares a la extracción por vía abierta como se recoge en la Tabla 5 (Brown et al, 2001; Wolf et al, 2001; Challacombe et al, 2004; El-Galley et al, 2004; Simforoosh et al, 2005; Srivastava et al, 2007), lo cual puede contribuir a que se aumente el número de donaciones ya que la hace más atractiva (Matasa et al, 2003; Leventhal et al, 2004; Srivastava et al, 2007). Hecho que está favoreciendo que en muchos centros se opte por la cirugía laparoscópica como el abordaje de elección (Simforoosh et al, 2005).

Tabla 5: Ventajas de la nefrectomía laparoscópica de donante vivo

- Disminuye el dolor y la morbilidad de la nefrectomía
- Acorta el periodo de recuperación
- Disminuye la estancia hospitalaria
- Mejores resultados cosméticos
- Satisfacción de los donantes y posible aumento del número de donantes vivos

Entre las ventajas de la extracción laparoscópica podemos encontrar:

- **Disminución del dolor postoperatorio:** El consumo de analgésicos parenterales, reflejo del dolor en el postoperatorio inmediato, se reduce por debajo del 50% (Jacobs et al, 2000).
- **Reducción del periodo de recuperación:** La recuperación del donante después de la nefrectomía laparoscópica es más rápida, con una reducción media del tiempo hasta la vuelta al trabajo de 2,5 frente a 3,5 semanas respecto de la nefrectomía abierta (Burgos et al, 2002). En un estudio aleatorio de comparación entre la nefrectomía abierta y la laparoscópica manoasistida realizado por Wolf, la mediana de tiempo hasta volver a una situación normal al 100%, fue de 33 días para el grupo laparoscópico, mientras que el grupo de nefrectomía abierta, no había alcanzado su mediana a las 6 semanas (Wolf et al, 2001).

- **Disminución de la estancia hospitalaria:** La estancia media después de una nefrectomía laparoscópica oscila entre 1-4 días, frente a 3-6 días de la nefrectomía abierta (Jacobs et al, 2000).

- **Mejores resultados cosméticos**

- **Satisfacción de los donantes:** En el mismo estudio, Wolf constató que el 100% de los donantes volverían a realizar la nefrectomía laparoscópica, pero sólo el 60% repetirían la nefrectomía abierta ($p < 0,0009$); y que el 82% de los donantes referían efectos residuales menores (acorchamiento, dolor con la actividad, y abultamiento de la herida) a las 35 semanas de la nefrectomía abierta, frente al 18% del grupo laparoscópico. Lo cual puede repercutir en un posible aumento del número de donantes (Wolf et al, 2001).

1.2.2.3: Inconvenientes de la extracción laparoscópica.

Los inconvenientes de esta técnica quirúrgica se recogen en la tabla 6.

Tabla 6: Inconvenientes de la nefrectomía laparoscópica de donante vivo
<ul style="list-style-type: none"> • Duración de la intervención • Isquemia caliente más larga • Curva de aprendizaje larga y difícil • Coste

• **Tiempo quirúrgico:** El tiempo quirúrgico, es uno de los principales inconvenientes de la técnica. Existen numerosas publicaciones que presentan tiempos quirúrgicos más altos que la vía abierta (Ratner et al, 1998; Simforoosh et al, 2005). Sin embargo, a medida que se va adquiriendo experiencia los tiempos tienden a igualarse (Flowers et al 1997). En esta línea, Wilson presentó en 2005, un trabajo en el que comparaba 20 nefrectomías de donante vivo vía laparoscópica, con 20 vía abierta; no hallando diferencias estadísticamente significativas en cuanto a tiempos quirúrgicos: 165 minutos (105-240) por laparoscopia y 153 minutos (110-190) por lumbotomía ($p= 0.27$) (Wilson et al, 2005) .

• **Tiempo de isquemia caliente:** El tiempo de isquemia caliente medio, oscila entre 2 y 7 minutos, pero ello no conlleva un deterioro de la función inicial del injerto, ni de los resultados de supervivencia del mismo (Philosophe et al, 1999; Novick, 1999; Jacobs et al, 2000; Sasaki, 2000). Aunque como en el caso del tiempo de cirugía, conforme los grupos adquieren mayor experiencia, empiezan a aparecer publicaciones en las que se presentan tiempos de isquemia caliente similares a la vía abierta (Wolf et al, 2001; Stifelman et al, 2001).

Sasaki, estudió el efecto de la isquemia caliente en la función inicial del injerto en 100 casos de nefrectomía laparoscópica de

donante vivo, demostrando que tiempos superiores a 10 minutos de isquemia caliente, se asociaban con valores significativamente superiores de creatinina sérica a la semana del trasplante ($Cr < 1,5$ mg/dl en tiempos de isquemia caliente menores a 10 minutos, frente a 4,9 mg/dl para tiempos superiores a 10 minutos) (Sasaki et al, 2000).

- **Curva de aprendizaje:** Se trata de una técnica nueva, en la que la curva de aprendizaje es larga. La principal dificultad reside en el desarrollo de unas nuevas habilidades y en la pérdida del tacto de las estructuras durante la intervención (Aguilera et al, 2004; Wolf et al, 2001). En cuanto al desarrollo de dichas habilidades, la curva de aprendizaje es más rápida si en el centro se cuenta con cirujanos con experiencia laparoscópica (Raventós et al, 2007). Entre las principales causas de disfunción inicial del injerto en las primeras series se apuntaba a la inadecuada disección del pedículo y del uréter (Ratner et al, 2000; Ratner et al, 2001; Behrends et al, 2002). Sin embargo, publicaciones más recientes de grupos con mayor experiencia, presentan tiempos quirúrgicos y de isquemia caliente equiparables, con sangrados menores y con la misma incidencia de complicaciones ureterales (Challacombe et al, 2004; Lind et al, 2004; Wilson et al, 2005; Fuller et al, 2006; Chin et al, 2007).

- **Coste:** La laparoscopia es una cirugía de alta tecnología, y por consiguiente resulta cara. Las técnicas quirúrgicas laparoscópicas son

competitivas en relación al coste-efectividad, cuando el tiempo de utilización del quirófano y la estancia hospitalaria son cortos, ya que esta técnica supone a los centros una inversión en material y en tiempo de utilización de quirófano (Lotan et al, 2002). Si bien, en centros con experiencia, el tiempo quirúrgico se acorta llegando a presentar tiempos similares a los de la cirugía abierta; y al tener un postoperatorio menos doloroso, los días de estancia hospitalaria, el consumo de analgésicos, y las pérdidas económicas en cuanto a tiempos de bajas laborales son menores respecto a la cirugía abierta, por lo tanto el coste es competitivo (Berney et al, 2000; Challacombe and Mamode, 2004).

El coste medio para la nefrectomía laparoscópica en la actualidad, son 6.090 euros, y el de la vía abierta es de 4.818 euros (Kok et al, 2007).

1.2.2.4: Efectos conocidos del neumoperitoneo.

El neumoperitoneo se genera insuflando gas intrabdominal, habitualmente CO₂. El aumento de presión intrabdominal durante la cirugía laparoscópica, implica cambios desde el punto de vista cardiovascular, pulmonar, metabólico y renal (Ver tabla 7). Aunque dichos cambios son en general bien tolerados por pacientes sanos, puede tener severas consecuencias en pacientes mayores o con una reserva cardiopulmonar limitada (O'Malley et al, 2001; Alishahi et al, 2001; Joshi, 2002). Los mecanismos implicados en estos cambios son

el estado cardiopulmonar basal del paciente, la técnica anestésica, la presión intrabdominal, la posición en la mesa para el desarrollo de la técnica quirúrgica y la absorción de CO₂ (O'Malley et al, 2001; Hazebroek et al, 2002). Estos cambios son directamente proporcionales a la presión intrabdominal, minimizándose con presiones menores de 12 mmHg (Ishizaki et al, 1993; Dexter et al, 1999).

Tabla 7: Efectos conocidos del neumoperitoneo
<ul style="list-style-type: none">• Isquemia de los órganos espláncnicos• Oliguria• Cambios a nivel hemodinámico• Alteraciones respiratorias

• **Isquemia de los órganos espláncnicos:** El aumento de presión intrabdominal produce un cierto grado de isquemia de los órganos espláncnicos por disminución del flujo vascular, hecho que se traduce en alteraciones funcionales y estructurales (Elfttheriadis et al, 1996; O'Malley C et al, 2001; Schafer et al, 2001).

Tras un periodo de tiempo sometidos a un aumento de presión, al desinsuflar el abdomen se produce una secuencia de isquemia-reperusión, que puede conllevar unos potenciales daños relacionados con la hipoxia celular (Li et al, 2002). Los órganos más afectados por

este proceso son el hígado y los riñones (Elftheriadis et al, 1996; Schafer et al, 2001).

El flujo sanguíneo renal se ve claramente comprometido como consecuencia del aumento de la presión intrabdominal. En un modelo experimental de autotrasplante realizado con cerdos se demostró que el flujo sanguíneo renal durante la laparoscopia es de 70 ml/minutos, mientras que en el grupo de cirugía abierta es de 260 ml/min, y que este efecto se mantiene durante la primera hora tras la reperfusión (Burgos et al, 2003). Este hecho queda corroborado en diferentes series de donación en humanos que comparan la vía laparoscópica con la vía abierta, en ellas se evidencia una disminución del flujo sanguíneo renal durante la primera hora tras el implante en los riñones extraídos por laparoscopia respecto a los extraídos vía abierta (Linares et al, 2008; Subirá et al 2008).

• **Oliguria:** La oliguria es uno de los efectos principales desde el punto de vista renal. Los mecanismos que producen esta oliguria son la compresión del parénquima, la compresión del pedículo renal, la reducción del débito cardíaco, y posiblemente la compresión ureteral (Burgos et al, 2003; Cisek et al, 1998). También se han descrito factores hormonales, como el aumento de los niveles séricos de hormona antidiurética (ADH), que es un

fenómeno dependiente de la presión intrabdominal, que pueden tener un papel importante sobre la reducción de la diuresis, y los cambios en el flujo sanguíneo renal, aunque en cualquier caso, son reversibles (Dunn and McDougall, 2000; Hazebroek et al, 2002).

Otras complicaciones que también aparecen son la necrosis celular y el fallo renal (Yilmaz et al, 2003).

- **Cambios a nivel hemodinámico:** Entre los cambios cardiovasculares encontramos un aumento de las resistencias vasculares, un aumento de la presión arterial media y un aumento del gasto cardíaco, dichos hallazgos son reversibles tras la desinsuflación (Alishahi et al, 2001; O'Malley et al, 2001).

El aumento de las resistencias vasculares se ve incrementado por una activación del Sistema Nervioso Simpático secundario a la reabsorción de CO₂, lo cual conlleva un mayor gasto cardíaco para suplir los mayores requerimientos de oxígeno por parte del miocardio.

Como consecuencia del neumoperitoneo también aumentan la presión intratorácica, y se producen numerosos cambios circulatorios como la disminución del flujo sanguíneo cerebral y de los órganos esplácnicos, así mismo también se reduce el flujo venoso femoral hasta en un 29% (Alishahi et al, 2001) con el consiguiente riesgo de

sufrir una trombosis venosa profunda (O'Malley et al, 2001; Joshi, 2002).

- **Alteraciones respiratorias:** El CO₂ difunde hacia los vasos venosos durante el neumoperitoneo, y esta absorción, produce una hipercapnia. La hipercapnia, activa el Sistema Nervioso Simpático, lo cual se traduce en un aumento de la contractibilidad del miocardio, y en la posibilidad de que se produzcan arritmias, ya que además, sensibiliza al miocardio a la acción de las catecolaminas.

A nivel respiratorio, el aumento de la presión intrabdominal desplaza el diafragma con lo que disminuye la capacidad pulmonar funcional residual y la complianza, con lo que aumenta el riesgo de de atelectasias basales. También aumentan los requerimientos de flujo ventilatorio por minuto para mantener la normocapnia (O'Malley et al, 2001; Joshi, 2002). Estos cambios fisiopatologicos, producen hipercapnia e hipoxemia, lo cual conlleva una ventilación menos efectiva por la vasoconstricción pulmonar (Gerges et al, 2006).

Con intención de minimizar todas estas alteraciones en 2003, Khauli publicó un trabajo en el que recomienda disminuir la presión del neumoperitoneo de 15 mm Hg a 8 mm Hg, con el fin de mejorar la perfusión renal durante la extracción (Khauli et al, 2003).

1.2.2.5. Complicaciones quirúrgicas.

Habitualmente el riesgo quirúrgico de la donación se asimila al riesgo de la nefrectomía laparoscópica por otras causas. La

mortalidad de este procedimiento es baja (0,03%) si se excluye la existencia de enfermedad cardiopulmonar significativa (Najarian et al, 2004). No obstante, no está exenta de morbilidad para el donante, hasta un 3 % de los pacientes experimentan complicaciones mayores debidas a la cirugía (Matas et al, 2003).

Entre las principales **complicaciones peroperatorias** encontramos:

- **Sangrado:** La extracción laparoscópica está asociada a un bajo porcentaje de lesiones renovasculares, que se estima entre un 1 y 4% según las series (Burgos et al, 2002). El sangrado durante la cirugía por lesión del pedículo, es la principal causa de reconversión a vía abierta (Hsu et al, 2003, Leventhal et al, 2004).
- **Lesión de órganos adyacentes:** La lesión de órganos como hígado, bazo o intestino oscila entre 0 y 4% según las series (Burgos et al, 2002). Aunque con la evolución de la técnica cada vez es más infrecuente (Chin et al, 2007).

En cuanto a las **Complicaciones postquirúrgicas**, las principales son (Chin et al, 2007):

- **Infecciones de la herida quirúrgica:** Las infecciones de la herida o los hematomas sobreinfectados de la misma, son la principal complicación que se ha descrito durante el postoperatorio, presentándose hasta en un 2.6% de los casos.
- **Dolor o inflamación testicular:** hasta en un 1.6%.

- **Reintervenciones:** Se han descrito reintervenciones por sangrado entre 0.4-1%.
- **Otras complicaciones** que se presentan con menos frecuencia, son el íleo paralítico prolongado, o el dolor de la incisión abdominal. La trombosis venosa profunda, también se ha presentado como complicación tras la cirugía laparoscópica, principalmente en personas con varices, en relación a la dificultad para el retorno venoso secundario al neumoperitoneo y la posición en Trendelenburg de algunas cirugías (Holzheimer RG, 2004).

1.2.2.6: Complicaciones no quirúrgicas del donante.

En cuanto a la seguridad del donante se trata de un elemento indispensable en este tipo de técnicas ya que se trata de personas sanas, existen numerosos estudios que demuestran que los donantes de riñón presentan un buen estado de salud, tanto a corto como a largo plazo, e incluso una mayor esperanza de vida que la población en general, debido a que la selección de los donantes se realiza entre personas sanas (Fehrman-Ekholm et al, 2003). Las complicaciones no quirúrgicas más frecuentes se recogen en la tabla 8.

Tabla 8: Complicaciones no quirúrgicas del donante
<ul style="list-style-type: none"> • Hipertensión arterial • Hiperfiltración glomerular

- La **Hipertensión arterial**, se ha descrito entre 5.7-37.5% de los donantes, en la mayoría de casos leve (145/95 mmHg de media) (Azar et al, 2007; Chin et al, 2007). Aunque también existen autores que no encuentran un aumento de incidencia superior al de la población general según su edad y sexo. Si bien, es un factor importante a controlar, ya que puede causar nefroangioesclerosis e insuficiencia renal (Sansalone et al, 2006; Fehrman-Ekholm I, 2006; Saxena et al, 2006).

- **Hiperfiltración glomerular**, que puede representar un daño para el riñón restante a largo plazo (Bock et al, 1992). La Teoría de la hiperfiltración de Brenner, considera que al nacer disponemos de aproximadamente un millón de nefronas por unidad renal, y la reserva funcional renal consiste en un mayor trabajo de las unidades nefronales. La ausencia de reserva funcional, significa que las nefronas residuales trabajan al máximo de su capacidad.

Con la reducción del número de nefronas, aumenta la demanda de su función, aumentando la presión y el flujo arteriolar glomerular, con el consiguiente incremento de la fracción de filtración (hiperfiltración), pero a costa de la instauración de nuevas lesiones que afectarán a nuevos glomérulos (glomeruloesclerosis), y por tanto, se traducirá en una reducción de la masa renal. El descenso de la reserva funcional renal es el primer índice de deterioro de la función renal, y la expresión de la hiperfiltración es la proteinuria, la

cual, por otra parte, es un factor fundamental en la progresión del daño renal (Brenner, 1992).

La teoría de la hiperfiltración de Brenner es aceptada actualmente como la causa de la evolución a Insuficiencia renal crónica terminal en la oligonefronia, numerosos casos de agenesia o hipoplasia renal unilateral, y de la nefropatía de reflujo; siendo la obesidad y la vejez factores determinantes asociados (Serrallach et al, 2001).

Saxena publicó en 2006, un estudio en el que comparaba la adaptación a la hiperfiltración en pacientes monorrenos mayores o menores de 57 años, y concluyó en que el nivel de hiperfiltración glomerular era similar en ambos grupos. Sin embargo, el grupo de mayores de 57, presentaba mayor hipertensión glomerular y mayor riesgo de desarrollar esclerosis glomerular que conduzca a una insuficiencia renal, por lo tanto, se ha de tener precaución al seleccionar los donantes de riñón añosos, en especial, a partir de la séptima década de la vida (Saxena et al, 2006).

1.3: Valoración de la viabilidad del injerto pretrasplante

En los últimos años se ha producido un incremento en la edad media de los donantes de órganos, aceptándose en algunos centros, órganos considerados “subóptimos” procedentes de donantes añosos, y afectados por factores de riesgo vascular. Así mismo, también se van desarrollando programas de utilización de órganos de donantes en parada cardíaca. Todos estos factores explican la necesidad de diseñar pruebas de viabilidad, para optimizar la selección de los riñones disponibles para trasplante.

El principal riesgo es aceptar órganos que van a experimentar disfunción inicial, al no disponer de criterios ni marcadores objetivos para conocer la situación funcional del injerto antes de su implantación. Cuando esto ocurre, la prolongación del tiempo de ingreso, el mayor número de sesiones de diálisis, el empleo inefectivo de más tratamiento inmunosupresor, la realización de biopsias y otras maniobras para diagnosticar y tratar situaciones de disfunción renal, incrementan el impacto social y económico del trasplante. Disponer de marcadores objetivos de viabilidad del injerto, permitiría no sólo establecer un pronóstico funcional, sino tener una herramienta para cuantificar el éxito de maniobras dirigidas a reducir la lesión pretrasplante, y por tanto a mejorar el estado del riñón antes del implante. En la tabla 9 se recogen los factores pronósticos de supervivencia del injerto que conocemos antes del trasplante.

Tabla 9: Factores de riesgo de supervivencia pretrasplante renal
(tomado de Martin and Erraste, 2006)

- Tiempo prolongado en lista de espera de TR: es un factor potente e independiente, así como potencialmente modificable poniendo a los pacientes en lista de espera antes de su inclusión en diálisis.
- Alta incompatibilidad HLA entre donante y receptor.
- Origen del donante:
 - Resultados muy superiores en la donación de vivo frente a la de cadáver.
 - Donantes a corazón parado.
 - Donantes marginales o con criterios expandidos: más de 60 años de edad, historia de hipertensión arterial o ictus cerebral como causa de muerte, creatinina superior a 1,5 mg/dl e historia de diabetes mellitus.
- Tiempo de isquemia fría prolongado.
- Receptores sensibilizados con anticuerpos antiHLA pretrasplante.

En estos momentos las herramientas objetivas de las que disponemos para valorar la viabilidad del injerto, son principalmente las biopsias renales del donante, la valoración de su función renal, y de las resistencias vasculares (Tabla 10).

Tabla 10: Métodos habituales en la valoración de la viabilidad del injerto renal

- Parámetros anatómo-patológicos
- Parámetros bioquímicos
- Valoración de resistencias vasculares

1.3.1: Datos Anatomopatológicos

El análisis histológico es básico para conocer si existe daño tisular y la gravedad del mismo. La biopsia renal del donante, se considera obligatoria en donantes en las situaciones siguientes: edad

avanzada (>50 años), Hipertensión arterial, Diabetes Mellitus, Necrosis tubular, Coagulación Intravascular Diseminada, o un aumento inexplicable de la creatinina sérica antes de la muerte del donante.

Se trata de una exploración imprescindible para el aprovechamiento de riñones subóptimos en los trasplantes dobles, y es necesaria cuando se observan lesiones sospechosas de neoplasia o cuando macróscópicamente, el riñón ofrece un aspecto patológico con cicatrices o signos de infarto (Carrera et al, 2002).

Se ha correlacionado la edad del donante, con el aumento del porcentaje de glomérulos esclerosados, con el incremento de la fibrosis intersticial, con la peor función inicial del injerto, y con la disminución de la supervivencia del mismo. Los cambios vasculares propios de la edad, condicionan una hialinización y una esclerosis glomerular, con una pérdida de nefronas funcionantes. Ello se traduce a nivel anatómico, en una pérdida de masa renal, fundamentalmente, a expensas de la cortical; y a nivel funcional, en una disminución del filtrado glomerular de alrededor de 1 ml/minuto/año, descendiendo de un valor medio de 110-120 ml/min/año a los 30 años de edad, hasta los 65-70 ml/min/año a los 70 años. Este descenso del flujo plasmático renal y del filtrado glomerular, se acompaña de un incremento de las resistencias vasculares (Riera L, 2000).

En esta línea y con intención de racionalizar el uso de riñones de donantes de edad avanzada, la Organización Nacional de

Transplantes (ONT) elaboró en 1998 un documento de consenso, en el que se aconseja el transplante renal doble cuando en la biopsia del donante añoso (> 60 años) se evidencie un porcentaje de glomeruloesclerosis superior al 20% (Morales et al, 1998).

Los criterios de Banff se publicaron por primera vez en 1993 (Solez et al, 1993), con el fin de definir un sistema estandarizado para la evaluación de las lesiones renales, que fuese reproducible y fácilmente adoptable por los distintos centros. Para ello, los criterios de evaluación y diagnóstico, se definieron a partir de los datos obtenidos en secciones procesadas de forma habitual, es decir, en secciones embebidas en parafina, seccionadas a 4 micras de grosor, y teñidas con los procedimientos habituales: hematoxilina-eosina, ácido periódico de Schiff (PAS) y tricrómico de Masson.

La evaluación de una biopsia del aloinjerto mediante los criterios de Banff consiste, primero en la gradación semicuantitativa de la severidad de las lesiones agudas y crónicas, mediante una escala ordinal de 0 a 3 en cada uno de los cuatro compartimentos renales: glomérulo (glomerulopatía), intersticio (fibrosis intersticial), túbulo (atrofia tubular) y vaso sanguíneo (hiperplasia intimal). La escala semicuantitativa utilizada es asimétrica (Ver tabla 11). Por ejemplo, para la evaluación de la severidad de la fibrosis intersticial, se evalúa el porcentaje de la biopsia afectado de la siguiente forma (Imágenes 1, 2, 3 y 4): afectación del 0 al 5% equivale a *ausencia*

de fibrosis (ci =0), del 6-25% a fibrosis leve (ci =1), del 26 al 50% a fibrosis moderada (ci =2), y del 51 al 100% a fibrosis severa (ci =3).

Imagen 1: Tinción en hematoxilina-eosina a 40 aumentos en la que podemos apreciar la lesión glomerular.

Imagen 2: Tinción con ácido periódico de Schiff a 40 aumentos en la que se aprecian lesiones tubulares con vacuolización celular.

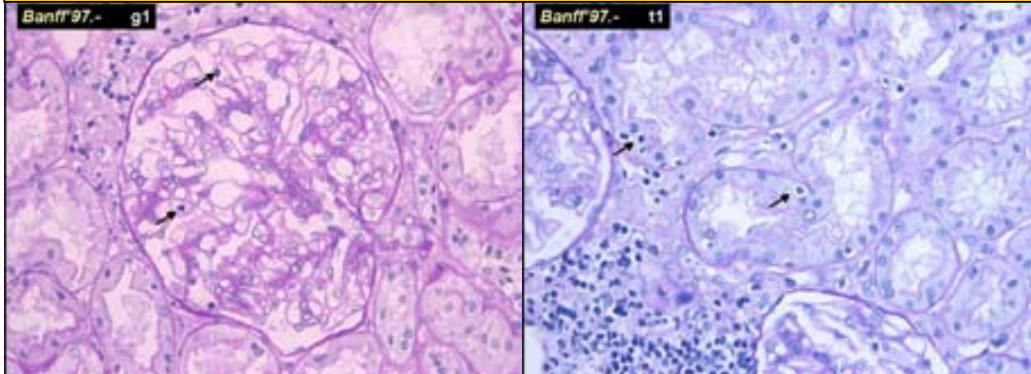
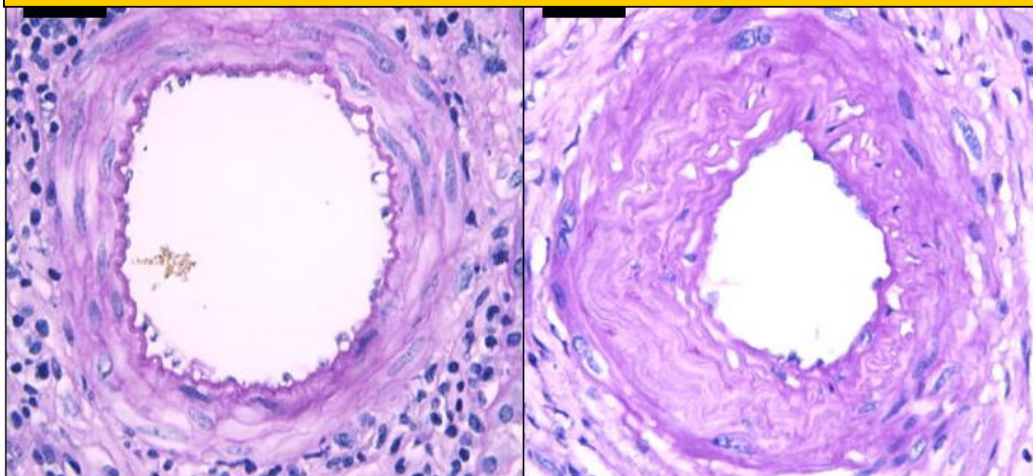


Imagen 3 y 4: Tinción en hematoxilina-eosina a 100 aumentos de vaso sanguíneo normal (3), y con hiperplasia intimal (4).



Otro aspecto a tener en cuenta, es que se deben practicar biopsias a ambos riñones en los donantes marginales (> 55 años, Hipertensión Arterial, Diabetes Mellitus o proteinuria (>1gr)), ya que aunque se encuentran hallazgos histológicos similares hasta en un 82.6%, en un 17.4% de los casos, se observan discrepancias entre ambos riñones (Esquena et al, 2006).

Tabla 11: Metodología histopatológica de selección del donante añoso según los criterios de Banff (tomado de Serrallach et al, 2001)				
Puntuación	Esclerosis glomerular	Atrofia tubular	Fibrosis intersticial	Afectación vascular
	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (Sin afectación)
	1 (<20%)	1 (<20%)	1 (<20%)	1 (Pared < diámetro)
	2 (20-50%)	2 (20-50%)	2 (20-50%)	2 (Pared 0 diámetro)
	3 (>50%)	3 (>50%)	3 (>50%)	3 (Pared > diámetro)
Puntuación total de 0 a12				

1.3.2: Parámetros bioquímicos

Uno de los criterios básicos para la selección del donante, es su función renal. Para su valoración nos basamos principalmente en 3 parámetros.

- En primer lugar, las cifras de **creatinina sérica**, en especial en la previa al ingreso, ya que los procesos agudos relacionados con la causa de la muerte, pueden haber influido en su alteración (deshidratación, intoxicaciones...).

- En segundo lugar, el **aclaramiento de creatinina**, que se valora teniendo en cuenta la edad, el sexo, el peso y la cifra de creatinina plasmática. Se considera normal > 60 ml/min. Con aclaramientos de creatinina entre 40-60 ml/min, se recomendaría un trasplante renal doble si cumple el resto de criterios (Riera L, 2000).

- La **proteinuria** (> 1 gramo), también es un parámetro que ayuda a valorar la calidad de los posibles injertos, aunque puede ser difícil de determinar dependiendo de la causa de la muerte, en especial en los donantes a corazón parado, en presencia de hematuria, o en pacientes sondados.

1.3.3: Valoración de resistencias vasculares

La valoración de las resistencias vasculares nos informará del estado de los vasos y de la microcirculación renal. Las resistencias se calculan teniendo en cuenta la presión arterial del enfermo y su flujo renal, como se demuestra en la fórmula siguiente (Serrallach et al, 2001).

Figura 2: Estudio hemodinámico de la microcirculación renal (tomado de Serrallach et al, 2001)

$$\text{Flujo} = \frac{\text{P. Sistólica} + 2 (\text{P. Diastólica})}{3} \quad \text{Resistencia Vascular renal}$$

Para la valoración de los riñones se utilizan los datos obtenidos de las biopsias y la valoración de las resistencias vasculares. Si la escala de la biopsia está entre 0 y 3, y la resistencia vascular es $< 0,25$, el riñón se emplea para trasplante único. Con escalas entre 4 y 6, y resistencias vasculares entre 0,25 y 0,40, los riñones serán para trasplante doble. Escalas y resistencias vasculares superiores, son exponentes de riñones no válidos para ser trasplantados (Serrallach et al, 2001).

1.4: Efectos de la isquemia en el implante

Los órganos al estar sometidos a un periodo de isquemia más o menos prolongado tras su extracción, y su posterior reperfusión en el momento del implante, sufren un fenómeno conocido como **estrés oxidativo**, que se define como la pérdida del balance normal entre sustancias oxidantes y antioxidantes en el organismo (Sies H, 1997). Estas sustancias no sólo sirven como indicativo, sino que también contribuyen a producir este daño, por ejemplo a nivel renal (Akbulut et al, 2002; Haugen et al, 1999).

La **isquemia**, afecta a la respiración celular, y provoca una depleción de nutrientes. El resultado final es la acumulación de catabolitos que llevarán a la muerte celular, y a la obstrucción de los vasos intrarrenales por acúmulo de leucocitos y hematíes.

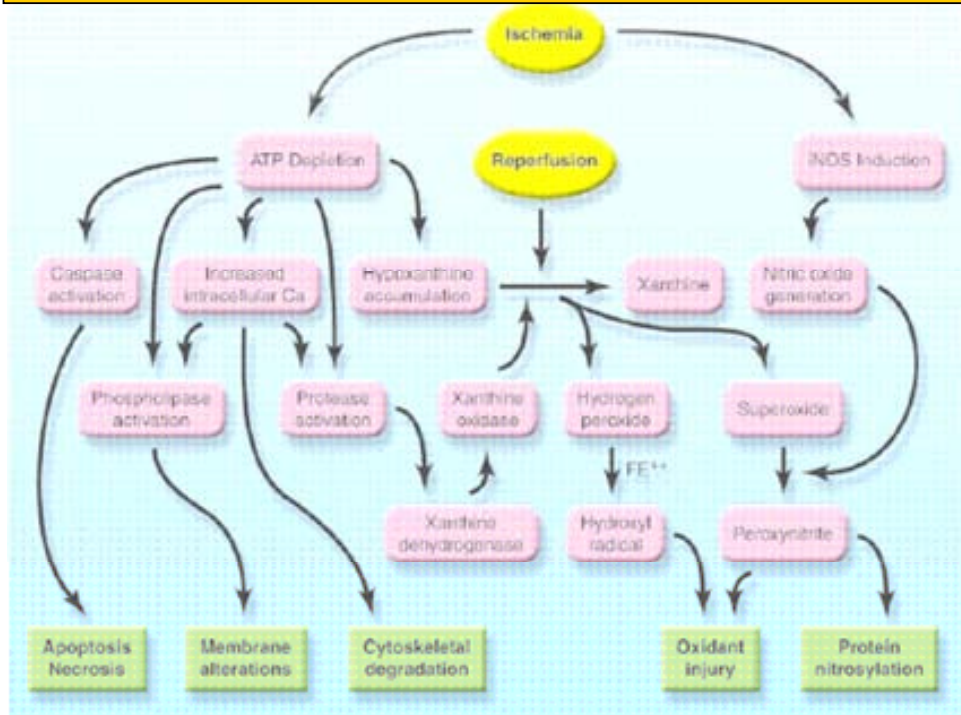
La isquemia, favorece el metabolismo anaeróbico, que es menos eficiente en la generación de energía celular. Este, tan sólo consigue generar 2 moléculas de adenosintrifosfato (ATP) a partir de una molécula de glucosa, en lugar de las 38 que se consiguen en la vía aeróbica. Esta energía, representada por el ATP, es imprescindible para el mantenimiento del equilibrio iónico celular, dado que las bombas de membrana (Na^+/K^+ y $\text{Ca}^{++}/\text{Mg}^{++}$) son ATPasa dependientes. Su fallo, llevará a la lisis celular por edema y activación de la Fosfolipasa A. Además, el metabolismo anaeróbico, produce un descenso del pH intracelular, y la activación de múltiples enzimas celulares que provocan una inestabilidad de las membranas de los

lisosomas, con activación y liberación de sus enzimas líticos, y la consiguiente lisis de la célula.

El daño renal no es sólo consecuencia de la isquemia, sino que también contribuye la reoxigenación que se produce en el riñón durante la **reperfusión**. Durante la isquemia, los nucleótidos de alta energía (ATP), se degradan a nucleótidos de baja energía adenosinmonofosfato (AMP) para catabolizarse hasta hipoxantina. La presencia de oxígeno durante la reperfusión, oxida la hipoxantina a xantina, con formación de radicales libres de oxígeno (RLO). A pesar de que la célula tiene mecanismos tampón para neutralizar los RLO, como son glutatión, ácido ascórbico, el triptófano y la histidina, éstos han sido previamente depleccionados de una forma proporcional al grado de lesión isquémica.

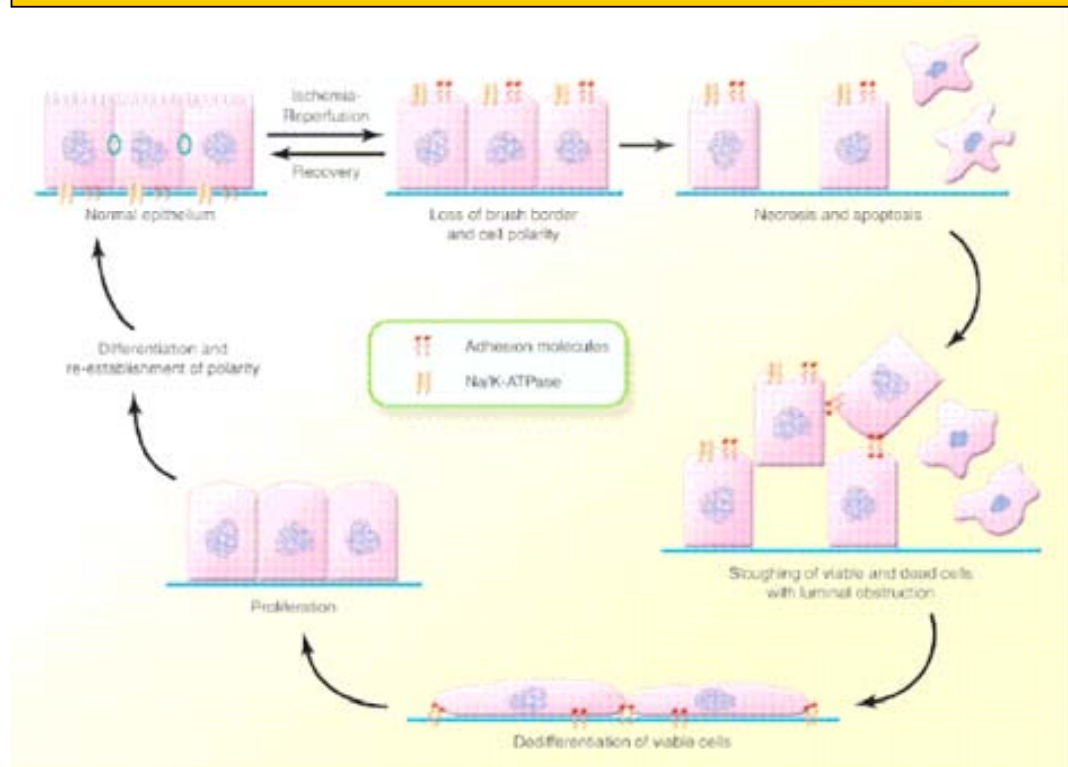
Los RLO son tóxicos directos de la célula, produciendo una lipoperoxidación de sus membranas, con producción de productos de degradación de las mismas como el malondialdehído (MDA), y catabolitos con actividad vasoactiva, tales como prostaciclina y tromboxano entre otros (Ver figura 3).

Figura 3: Alteraciones que se producen en las células tubulares renales tras la isquemia y reperfusión
(tomado de Devarajan P, 2006)



La célula renal más sensible es la célula tubular, y su lesión va a llevar a distintos grados de necrosis tubular aguda (NTA), según la intensidad de la agresión por isquemia-reperfusión. La NTA es una lesión reversible, aunque complica el manejo del enfermo trasplantado, y su presencia, hace empeorar el pronóstico de funcionalidad renal en aproximadamente un 10% a los 10 años. Si la lesión es mayor, también se afectarán los glomérulos, dando lugar a una necrosis cortical, una *lesión irreversible, que conlleva la ausencia de función del injerto* (Burgos et al, 2002) (Ver figura 4).

Figura 4: Alteraciones en las células del túbulo renal tras la isquemia
(tomado de Devarajan P, 2006)



1.5: Extracción laparoscópica y evolución del injerto

Por un lado, la donación renal de vivo, reduce el tiempo de isquemia, ya que la extracción y el implante son prácticamente consecutivos, con lo que el daño celular secundario a la isquemia, se reduce considerablemente. Pero por otro lado, con el progresivo auge de la extracción renal laparoscópica, algunos autores han expresado sus dudas sobre el papel que el **neumoperitoneo** pueda tener en dicho daño celular.

La principal preocupación en la nefrectomía laparoscópica del donante vivo, es la potencial repercusión en la función inicial del injerto. Las dos series iniciales de nefrectomías laparoscópicas de donante vivo, mostraron una preocupante incidencia de pérdida temprana del injerto (2.9-5.4%), acompañado de una mayor incidencia de complicaciones ureterales, superiores al 10% en ambas series (Flowers et al, 1997; Ratner et al, 1998). Pero con la evolución de la técnica se ha reducido esta incidencia.

Algunos autores, recomiendan clipar la vena gonadal, y todo el tejido que se halla entre dicha vena y el uréter en bloque, de manera que se preserve mejor la circulación del mismo (Philosope et al, 1999; Wadström J, 2003; Khauli et al, 2003). En las últimas publicaciones, se comparan las complicaciones ureterales entre la vía abierta y laparoscópica, sin hallar diferencias significativas entre ellas (Lind et al, 2004; Fuller et al, 2006).

En cuanto a la función del injerto, Nogueira en 1999, publicó un trabajo en el que se encontraban diferencias significativas en los niveles de creatinina sérica durante el primer mes postrasplante, entre los riñones obtenidos vía abierta, y los obtenidos por nefrectomía laparoscópica; siendo mejores, los obtenidos por vía abierta. En esta línea, Goel publicó en 2004, un estudio en el que comparaba la función inicial del injerto según la vía de extracción, encontrando que la función inicial del injerto, es más lenta en el grupo de la extracción laparoscópica (p no significativa), ya que consiguen su creatinina nadir en 8.7 días, respecto a 6.6 días del grupo de extracción vía abierta. Si bien, una vez alcanzada la creatinina nadir, no existen diferencias entre los grupos (Goel et al, 2004).

Cada vez son más numerosos los trabajos publicados, en los que no encuentran diferencias estadísticamente significativas en sus series (Ratner et al, 2000; Stifelman et al, 2001). Un ejemplo de ello, es un trabajo que publicó Wolf en 2001. Se trata de un estudio randomizado y prospectivo, en el que se realizan mediciones diarias de creatinina durante la primera semana tras el injerto, al mes, y a los tres meses, en el que no hallaron diferencias significativas entre el grupo en el que la extracción es abierta, o el que es laparoscópica manoasistida (Wolf et al, 2001).

Un aspecto importante a tener en cuenta, es que ni en los primeros estudios ni en los más recientes, se encuentran diferencias

estadísticamente significativas en cuanto a la función renal entre dichos grupos **a largo plazo**, analizando la función renal al año, y a los tres años (Ratner et al, 2000; Philosophe et al, 1999).

A la hora de buscar una teoría de porqué se producía una peor función inicial del injerto en los primeros tres meses del trasplante, se han relacionado varios factores:

- **Neumoperitoneo:** La mayor parte de las explicaciones, se relacionaron con el efecto que el neumoperitoneo pudiera tener en el flujo sanguíneo renal, y la repercusión de éste en su posterior función. Múltiples estudios han evidenciado la disminución del flujo renal, secundario al aumento de presión intrabdominal durante el neumoperitoneo, como hemos expuesto anteriormente. Este hecho, provoca durante el postoperatorio, un enlentecimiento de la normalización de los valores de función renal, respecto a los que se les practica una cirugía abierta (Burgos et al, 2003; London et al, 2000).

- **Aumento del tiempo de isquemia caliente:** Otro factor que se ha relacionado con la peor función inicial del injerto de donantes laparoscópicos, es el aumento de tiempo de isquemia caliente durante la extracción, aunque como hemos visto anteriormente, en los trabajos más recientes no se encuentran diferencias estadísticamente significativas entre los tiempos de isquemia caliente de los donantes por lumbotomía, y los donantes por laparoscopia.

1.6: Valoración evolución del injerto postrasplante

Los factores que más influyen en la supervivencia del injerto son: el grado de histocompatibilidad (HLA) (mejor en pacientes con HLA idénticos, seguido de los que comparten algún haplotipo, y por último de los que no presentan compatibilidad alguna), el tiempo de isquemia fría, la función renal retardada del injerto, el tipo de inmunosupresión, la incidencia de rechazo agudo y el efectuar el trasplante en situación de prediálisis como se expone en la tabla 12 (Martín P and Errasti P, 2006).

Tabla 12: Factores que influyen en la supervivencia postrasplante

(tomado de Martín P and Errasti P, 2006)

- Episodios de rechazo agudo como principal factor de riesgo de desarrollar nefropatía crónica del injerto.
- Función renal retardada del injerto por NTA.
- Receptor de más de 60-65 años de edad o con IMC superior a 30 kg/m².
- Función alterada del injerto al alta del hospital, a los 6 meses y al año del TR.
- Otros factores a tener en cuenta: la raza del receptor, la presencia de hipertensión arterial mal controlada y el tipo de tratamiento inmunosupresor, la diabetes mellitus y algunas glomerulonefritis como la segmentaria y focal y la membrano- proliferativa tipo I son factores de riesgo en la supervivencia del paciente y del injerto.

Sin embargo, para la valoración de la evolución del injerto una vez trasplantado, básicamente disponemos de las mismas técnicas que para su selección:

1.6.1: Parámetros bioquímicos

- **Medición de cifras de creatinina sérica:** La valoración de la función renal tras un injerto, se realiza igualmente a través de la medición de la cifra de creatinina sérica y del cálculo del aclaramiento de creatinina. La determinación de creatinina, además de darnos información sobre la función actual del riñón, es un parámetro predictivo de la supervivencia a largo plazo del injerto. Existen múltiples estudios en los que las cifras de creatinina sérica a los 6 y 12 meses, se correlacionan con la supervivencia del injerto a los 3 o 5 años. Cifras de creatinina ≤ 1.5 mg/dl a los 6 meses, se asocian con una supervivencia del injerto a los 5 años entorno al 80%, cifras entre 2.6 y 3 mg/dl, de 55%, y cifras de creatinina ≥ 3 mg/dl tienen una supervivencia del injerto $< 40\%$ a los 5 años (First MR, 2003; Fitzsimmons et al, 2003).

- **Proteinuria:** La proteinuria es un factor de riesgo que acelera la insuficiencia renal. En el trasplante renal, la proteinuria se relaciona con una menor supervivencia del injerto y del paciente, aunque es una hallazgo frecuente entre la población trasplantada. La proteinuria puede estar favorecida por distintos factores como son, la edad del donante, y la enfermedad glomerular para la proteinuria estable persistente; y el rechazo agudo para la proteinuria de incremento progresivo (Jiménez del Cerro et al, 2002).

1.6.2: Parámetros anatomopatológicos

Hasta un 25-50% de los TR, presentan disfunción inicial del injerto con oliguria o anuria, sobre todo por necrosis tubular aguda (NTA). Se trata de una complicación más frecuente en pacientes de alto riesgo inmunológico, y en los que reciben un injerto de donante añoso, en especial, si el trasplante se ha recibido en condiciones de hipotensión, o si ha tenido un tiempo de isquemia fría y de sutura prolongados. La ausencia de función del injerto en las primeras horas tras la cirugía, a pesar de una adecuada hidratación del receptor, es usualmente diagnóstica de NTA, si se han descartado causas obstructivas o vasculares. Habitualmente se resuelve en días, pero si la oliguria persiste en la segunda semana postrasplante, se debe realizar una biopsia para descartar rechazo agudo o nefrotoxicidad por anticalcineurínicos (Martin and Erraste, 2006).

La biopsia es esencial para un diagnóstico correcto (clasificación de Banff) y permite diferenciar entre un rechazo agudo túbulo-intersticial, que supone el 70- 85% de los episodios de RA, y un rechazo agudo vascular/humoral, que supone el 15- 30% de los episodios.

1.6.3: Papel del género en el daño renal y su reparación

Es conocido que el género influye en la tolerancia al daño renal. Existen cada vez más trabajos que demuestran que los estrógenos desempeñan un papel protector contra las lesiones renales (Metcalf

PD and Meldrum KK, 2006). Y nuevas publicaciones que apuntan a que la testosterona pueda tener algún papel en la producción de las mismas (Park et al, 2004).

Es clara la mayor predisposición del sexo masculino a sufrir patologías renales, y su más rápida evolución a IRCT con respecto a las mujeres (United States Renal Data System Annual Data Rep, 2001; Iseki et al, 1997; Silbiger et al, 1995); Como demuestra un metaanálisis publicado en 2000, la función renal se deteriora más rápidamente en los varones con nefropatía IgA, nefropatía membranosa idiopática, e insuficiencia renal crónica no diabética (Neugarten et al, 2000).

La respuesta del riñón ante el daño renal agudo también depende del género. Existen numerosos trabajos que demuestran un aumento en la incidencia de Insuficiencia renal aguda (IRA), y una mayor mortalidad secundaria a la misma en varones, de hasta un 50% más que en mujeres (Chertow et al, 1998; Obialo et al, 2002). En un registro de biopsias renales publicado en Italia en 2000, se evidencia que los varones presentan mayor incidencia de glomerulonefritis primarias, nefropatías tubulointersticiales, necrosis tubular aguda y nefropatías vasculares que las mujeres (Gesualdo et al, 2004).

La isquemia-reperfusión incrementa la producción de RLO. Este aumento produce una peroxidación lipídica, la activación de la cascada inflamatoria con la producción de citocinas (TNF-alfa, TGF-beta1, IL-18, IL-1beta e IL-6 entre otras), lo cual contribuye a la

producción del daño renal (Misseri et al, 2005). Como consecuencia, aumenta la actividad intracelular de las proteínas de membrana dependientes de la protein-Kinasa (MAPK) entre otras, que a su vez aumenta la inflamación, la disfunción orgánica y la apoptosis (Meldrum et al, 2001).

Los mecanismos por los que las hormonas sexuales intervienen en el daño renal aún no están claramente establecidos. Existe evidencia de que las hormonas sexuales esteroideas, tienen un importante papel en la cadena de la inflamación (Wang et al, 2005). Por lo tanto, dichas hormonas pueden influir en la regulación de los mediadores de la inflamación y la apoptosis (Park et al, 2004; Verzola et al, 2004; Wang et al, 2005). En 2004, se presentó un estudio retrospectivo que analizaba 3365 pacientes adultos trasplantados renales, de los cuales el 63% eran varones, y con un seguimiento medio de 2.5 años. En el que se concluía, que los receptores > de 60 años, varones, y que presentan una disfunción del injerto durante el primer año, presentan mayor mortalidad, en especial de causa cardiovascular (Alonso and Oliver, 2004).

1.7: Nuevos marcadores posibles de viabilidad renal

Además de valorar la función del órgano una vez trasplantado, y de los hallazgos anatomopatológicos si se realizan biopsias, no disponemos por el momento de otros marcadores que nos ayuden a predecir la evolución que va a presentar el injerto, o a detectar precozmente futuras disfunciones del mismo, y así poder tratarlas antes de que se manifiesten. De ello se deriva la necesidad de investigar sobre nuevas moléculas que nos orienten mejor en este sentido.

Otro aspecto importante de la necesidad de hallar nuevos marcadores de daño renal en humanos y animales, radica en la lentitud que existe actualmente en el paso de la información obtenida de estudios que se realizan sobre los posibles tratamientos farmacológicos de la insuficiencia renal aguda. Incluso la FDA (Food & drug Administration), ha impulsado iniciativas para fomentar la investigación a cerca de nuevos marcadores que puedan predecir la posible toxicidad de las drogas que se están experimentando en estudios preclínicos, y que ayuden a desarrollar y comercializar los productos de una manera más rápida y segura. Son precisos nuevos marcadores utilizables en animales y humanos para la detección precoz de toxicidades de los fármacos que puedan derivar en morbilidad o mortalidad. Los más estudiados se resumen en la tabla 13.

Tabla 13: Posibles marcadores de la valoración de la viabilidad del injerto renal

- **Kim-1 (Kidney injury marker-1)**
- Glutation-transferasa (GST)
- **Malondialdehído (MDA)**
- Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL)
- Cisteína rica en proteína 61 (CYR61)
- Interleukina-18 (IL-18)
- Clusterin
- F-actina
- N-acetyl- β -Dglucosaminidasa (NAG)

1.7.1: Malondialdehído (MDA)

Con este fin, se está investigando en los mecanismos implicados en el daño renal que se dan lugar durante el proceso del trasplante. Los órganos sometidos a un periodo de isquemia-reperfusión, sufren como hemos comentado anteriormente un **estrés oxidativo** (la pérdida del balance normal entre sustancias oxidantes y antioxidantes). Los oxidantes, son productos formados por el metabolismo aerobio, pero que pueden ser producidos en exceso en determinadas situaciones fisiopatológicas. Los niveles de sustancias oxidantes se mantienen prácticamente estables debido a las sustancias antioxidantes, que son capaces de adaptarse a las necesidades de cada momento. El estrés oxidativo se da cuando la producción de radicales libres, supera la actividad de las sustancias

antioxidantes. Estas especies son capaces de modificar químicamente todas las biomoléculas de las células (lípidos, proteínas y ácidos nucleicos), cambiando su estructura y su función, lo que puede desembocar en apoptosis y muerte celular (Sies, 1997).

Los RLO son extraordinariamente inestables y de una vida media muy corta, del orden de milisegundos. Si bien, es posible su detección, por lo general se intenta identificar su actividad a través de los metabolitos de degradación generados durante la lipoperoxidación.

Los fosfolípidos de la membrana celular son muy sensibles al ataque de los RLO. Esto puede provocar cambios en la fluidez y la permeabilidad de la membrana, perjudicando su habilidad para mantener gradientes iónicos a través de ella (Slater TF, 1984). El método más utilizado en estudios clínicos, por su sencillez y su estabilidad, es la determinación de niveles de **MDA**, producto intermedio de la peroxidación lipídica que presenta la propiedad de formar complejos coloreados con el ácido tiobarbitúrico, susceptibles de ser cuantificados mediante determinaciones espectrofotométricas. Se ha utilizado en múltiples trabajos experimentales como marcador de daño tisular producido, ya que su concentración tanto sérica como en tejido renal homogeneizado, aumenta durante la reperfusión tras un periodo de isquemia renal (Yilmaz et al, 2003; Akbulut et al, 2002; Simic-Ogrizovic et al 1998; Cevrioglu et al, 2004).

En 1998, se presentó un trabajo que por primera vez apuntaba a que el incremento del estrés oxidativo en el injerto, pudiera tener algún papel en el desarrollo de la nefropatía crónica del trasplante, y de la pérdida del injerto a largo plazo. En este trabajo se encontraban cifras de MDA más elevadas en pacientes con rechazo crónico diagnosticados por biopsia que en los controles, también se encontró que los niveles de MDA se correlacionaban con los niveles de creatinina sérica, mientras que otros marcadores de estrés oxidativo estudiados, como la glutathion peroxidasa, el glutathion, o la superóxido dismutasa, no presentaban con la creatinina una correlación significativa (Simic-Ogrizovic et al 1998).

1.7.2: kidney injury molecule-1 (Kim-1)

El epitelio del túbulo contorneado proximal de las nefronas, es particularmente sensible a los efectos de la isquemia o las drogas. Identificar precozmente las lesiones tubulares puede tener implicaciones en la intervención precoz, desarrollo de ensayos clínicos con agentes terapéuticos, y en la evaluación de una posible nefrotoxicidad de los medicamentos en animales y humanos. En respuesta a un insulto isquémico o químico, en el túbulo contorneado proximal del riñón se producen una serie de reacciones que comprenden: 1) pérdida de polaridad del citoesqueleto, 2) necrosis y apoptosis, 3) desdiferenciación de las superficies celulares, 4)

denudación de la membrana basal, 5) proliferación del epitelio tubular y 6) diferenciación y regeneración epitelial (Ichimura et al, 2004) (Ver figura 4).

La expresión génica de diferentes proteínas se altera cuando se produce un insulto renal como la nefrotoxicidad o la isquemia. La identificación y cuantificación de estas proteínas podría servir como marcador de daño renal.

En orina, se han examinado multitud de proteínas para detectar marcadores no invasivos de daño renal, entre ellos encontramos el glutathione-transferasa (GST) que es un enzima microsomal antioxidante, y que se puede hallar en lesiones del túbulo distal y proximal, sus cifras se encuentran elevadas en riñones con NTA (Kievit et al, 1997; Branten et al, 2000; Wight et al, 2003), neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) (Mishra et al, 2003), cisteína rica en proteína 61 (CYR61) (Muramatsu et al, 2002), interleukina-18 (IL-18) (Parikh et al, 2004), clusterin (Aulitzky et al, 1992), F-actina (Schwartz et al, 1999), N-acetyl- β -Dglucosaminidasa (NAG) (Westhuyzen et al, 2003), etc. Sin embargo, todas ellas han presentado diferentes problemas a la hora de identificarlas y monitorizarlas, demostrando poca sensibilidad y/o especificidad, ya sea porque cambian sus propiedades fisicoquímicas en contacto con la orina, tienen una presentación tardía, presentan inconsistencia en la regulación con los diferentes modelos de nefrotoxicidad, o *no*

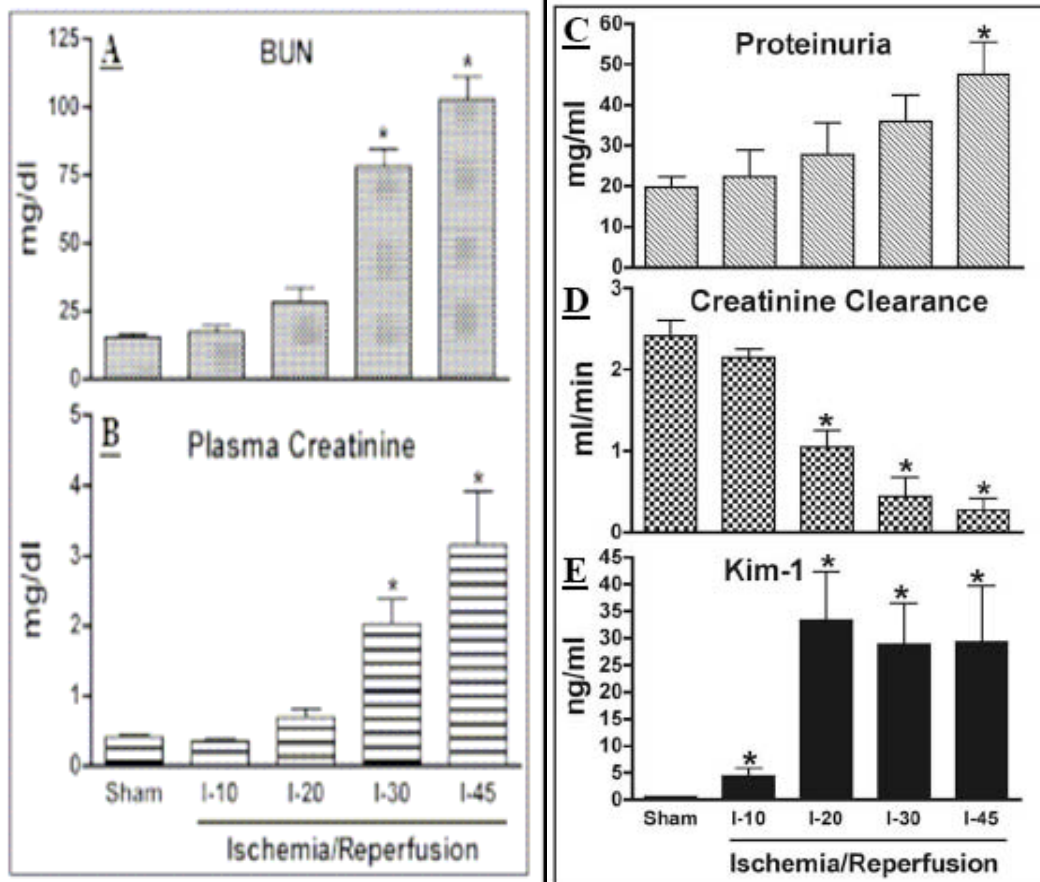
presentar una clara alteración durante todo el proceso de daño y reparación renal (Vaidya et al, 2006).

El grupo de Ichimura publicó en 1998, que el gen de la **Kim-1** se expresaba en exceso tras la isquemia inducida en los riñones de rata (Ichimura et al, 1998). El gen de la Kim-1, produce una proteína de membrana que tiene un ectodominio implicado en las alteraciones en la adhesión entre las células del epitelio del túbulo proximal cuando se producen cambios isquémicos, y por lo tanto, en la consiguiente aparición de proteinuria. Pudiéndose detectar la proteína Kim-1 en orina de pacientes con necrosis tubular (Han et al, 2002).

Se publicó un trabajo en 2004, en el que inducían daño renal en ratas mediante la administración de S-(1,1,2,2-tetrafluoroethyl)-L-cisteína (TFEC) en un grupo, ácido fólico en un segundo grupo, y cisplatino en el tercero. En todos ellos, se detectó la presencia de Kim-1 en orina de los casos, y no en los controles. Por lo que los autores, apuntan la posibilidad de que al detectarse Kim-1 en orina de animales sometidos a diferentes sustancias nefrotóxicas, esta proteína pueda servir como un biomarcador de lesión tubular, y del proceso de reparación del mismo, ya que además el aumento la detección de Kim-1, se halló sin que hubiera alteración de creatinina sérica en el caso de la administración de ácido fólico; y previa a su alteración, en el caso de la administración de cisplatino (Ichimura et al, 2004). Otro estudio presentado en 2006, demuestra que la Kim-1 se expresa sólo en áreas con inflamación, fibrosis o daño tubular y no

en tejido sano. Estos resultados implican a la Kim-1 en la patogénesis de la proteinúria inducida por el daño renal, por lo tanto puede servir como marcador de dicho daño (Van Timmeren et al, 2006) (Ver gráfico 7).

Gráfico 7: Alteraciones en la función renal y detección de niveles de Kim-1 tras diferentes tiempos de isquemia renal bilateral en ratas (0, 10, 20, 30 y 45 minutos). 24 horas después de la reperusión se les hacen mediciones en sangre, orina y tejido. A) Urea sérica, B) Creatinina sérica, C) Creatinina en orina, D) proteinuria y E) Kim-1 en orina. * ($p < 0.05$) en comparación con el grupo control. (tomado de Vaidya et al, 2006)



Es posible que marcadores de lesión renal procedentes de estudios de fracaso renal agudo como Kim-1, puedan ser útiles a la hora de establecer el estado del órgano a trasplantar con el objetivo de prever, qué órganos van a funcionar y cuáles no, para evitar el implante de estos últimos, y la aparición de su disfunción inicial (Hong et al, 2005).

1.8: Justificación del proyecto

Aunque la extracción laparoscópica renal para el trasplante de donante vivo es una técnica ampliamente difundida, no están bien definidos los efectos del neumoperitoneo sobre el órgano a trasplantar.

Creemos necesario desarrollar un sistema que nos permita predecir fiablemente la viabilidad del injerto. Por ello sería necesario estudiar posibles marcadores bioquímicos de daño renal más eficaces que de los que actualmente disponemos.

Pretendemos desarrollar un modelo animal extrapolable al humano, y realizar un programa de autotrasplante renal para eliminar las influencias de factores inmunológicos. De esta manera, podemos valorar diferentes marcadores de daño renal, así como valorar si hay diferencias en estos marcadores al ser sometidos a diferentes procesos como pueda ser el neumoperitoneo.

2. Hipótesis

El neumoperitoneo produce una isquemia de los órganos espláncnicos como el riñón. Esta isquemia y la posterior perfusión del injerto son responsables de daños a nivel celular con variable repercusión clínica. La lesión celular consiste en una necrosis tubular aguda (NTA) de intensidad variable y con carácter reversible. En función de la intensidad de esta agresión pueden lesionarse las células glomerulares, y dar lugar a un daño cortical irreversible que genere una disfunción permanente del injerto.

Nuestra hipótesis de trabajo es que el fenómeno de isquemia-reperfusión secundario al neumoperitoneo produce un daño tisular que puede ser cuantificado a nivel histológico, de expresión protéica y de recuperación funcional del injerto.

3. Objetivos

3.1 Objetivo primario

Valorar en un modelo porcino de autotrasplante renal la repercusión del efecto del neumoperitoneo sobre el injerto renal.

3.2 Objetivos secundarios

3.2.1 Analizar la repercusión a nivel tisular mediante el análisis de las **lesiones anatomopatológicas** utilizando los criterios de Banff.

3.2.2 Analizar la repercusión a nivel bioquímico mediante el análisis de lípidos y proteínas que reflejen el daño producido por el estrés oxidativo:

3.2.2.1 *Analizar el impacto sobre la oxidación de lípidos de membrana mediante la cuantificación de **malondialdehído** a nivel sérico y tisular.*

3.2.2.2 *Analizar el impacto sobre la producción de **Kim-1** tisular.*

3.2.3 Analizar la repercusión sobre la recuperación funcional del injerto mediante la determinación secuencial de creatinina y urea sérica.

Inicialmente este proyecto se diseñó sobre un modelo animal porcino de hembras híbridas entre las razas Large White y Landrace. Por motivos logísticos en el experimento nº 17, se

cambió a machos híbridos entre las razas Large White y Landrace, hecho que nos llevó a plantear el siguiente objetivo.

3.2.4 Analizar la influencia del género sobre el impacto del neumoperitoneo en el injerto renal según los criterios establecidos en los objetivos anteriormente descritos.

4. Material y métodos

4.1: Material

4.1.1: Infraestructura y aparataje de quirófano

El experimento se realizó entre Diciembre de 2006 y Junio de 2008 en las instalaciones del Instituto de Investigación básica de Vall d'Hebrón (Universidad Autónoma de Barcelona).

El estabulario está equipado con una sala adecuada para alojar a los animales de experimentación en el periodo preoperatorio y postoperatorio, una sala de prequirófano, y dos quirófano con todo el aparataje necesario para llevar a cabo con seguridad dicho experimento. Así mismo el procesamiento de las muestras analíticas se realizó en los laboratorios centrales del Hospital, y el de las muestras titulares en los departamentos de Investigación Básica y Anatomía Patológica de nuestro centro.

4.1.2: Animales de experimentación

El estudio se realizó con 20 cerdos de granja híbridos entre las razas Large White y Landrace, de 4 meses de edad, libres de patógenos específicos y de entre 29.5 y 41.8 kg de peso.

Los animales llegaban al estabulario una semana antes del procedimiento para su aclimatación y comprobación del estado

sanitario. Todos los animales se sometían a un periodo preoperatorio de ayuno de 12h en las que sólo tenían acceso libre al agua.

4.1.3: Justificación del modelo animal y aspectos éticos

Los modelos animales utilizados para el estudio de la isquemia renal han incluido ratas (Weight and cols, 1998), ratones (Bilde and cols, 1977), perros (Tsuji and cols, 1993) y cerdos (Haab and cols, 1996). Pero la respuesta a la isquemia renal está en relación con el tamaño del animal y del riñón (Weight and cols, 1998; Bilde and cols, 1977). Por ello la especie de animal elegido para este tipo de procedimiento es el cerdo.

El cerdo es un animal muy útil para la experimentación quirúrgica, en especial urológica, ya que se trata de un animal muy accesible, con grandes semejanzas anatómicas con el ser humano y por el gran tamaño de sus riñones (Bestard and cols, 2008; Subramonian and cols, 2004). Por otra parte, junto con el ser humano, es de las especies que presenta uno de los índices riñón/peso corporal más alto, lo cual le hace ser más resistente lesiones como la isquemia durante la extracción renal y que los resultados obtenidos sean más fácilmente extrapolables (Baldwin, 2004). Otra semejanza con la raza humana es la vascularización renal, que se divide transversalmente entre ambos polos, a diferencia de lo que ocurre en la mayoría de las especies en las que la división es longitudinal (Swindle and cols, 2000).

Los cerdos de granja son una especie extremadamente sensibles al estrés, por lo que se recomienda su traslado al estabulario hasta 3 semanas antes del experimento para su correcta aclimatación (Kaiser and cols, 2006).

El protocolo experimental cumplió los requerimientos de los dictámenes europeos para la protección de los animales utilizados con fines científicos y experimentales (86/609 EEC), y contó con la aprobación por el Comité de Ética del Hospital Vall d'Hebrón de Barcelona con fecha de Junio de 2006 (Anexo, Pg: 174).

4.2: Método

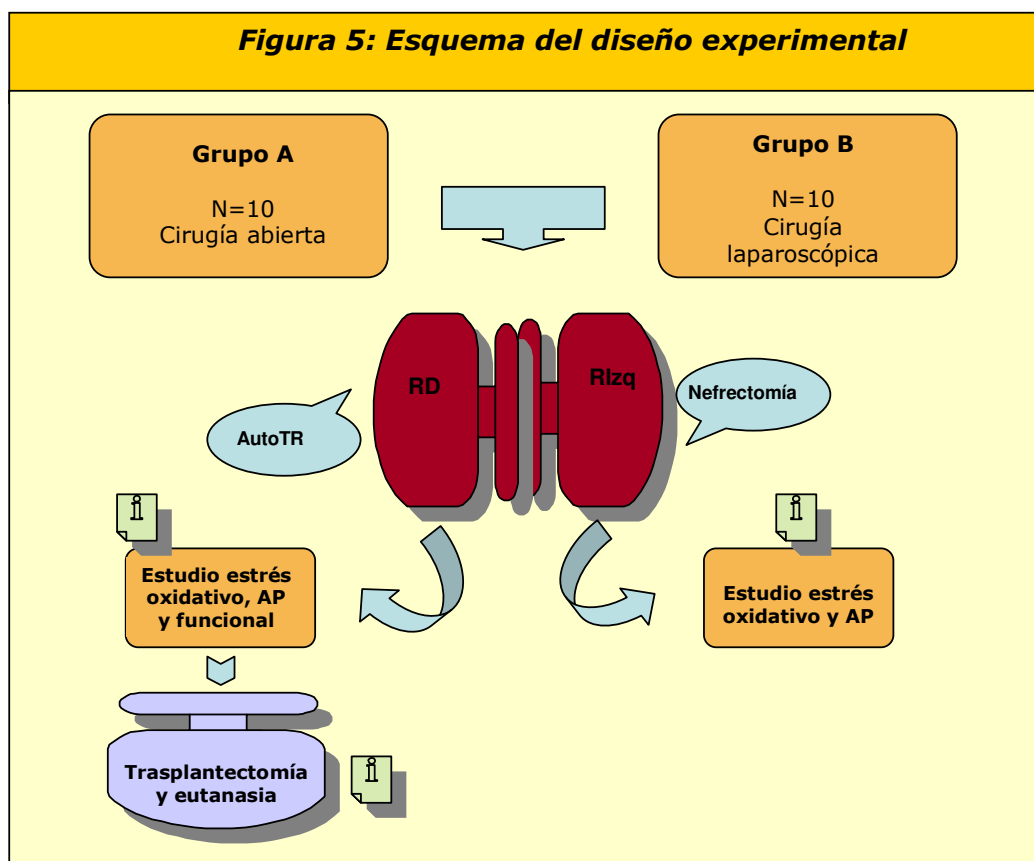
4.2.1: Diseño experimental

El estudio se realizó con 20 cerdos de las características anteriormente descritas, 10 machos y 10 hembras (Ver figura 5).

Todos ellos fueron sometidos a una nefrectomía bilateral, aunque en el caso del riñón derecho sin sección del uréter (vía de abordaje variable según el grupo de estudio asignado). Todos los riñones derechos fueron sometidos a 15 minutos de isquemia caliente. Posteriormente tras perfundir dicho riñón con solución de Wisconsin® a 4 °C, se realizó un autotrasplante a Aorta y Cava inferior. Tras ser despertados, los animales pasaron el postoperatorio durante una semana en la corralina del estabulario. El día 7 desde el implante, se realizó una trasplantectomía por laparotomía media, y se procedió a practicar la eutanasia del animal.

Los animales fueron distribuidos en 2 brazos de estudio:

- **Grupo A:** En 10 animales (5 machos y 5 hembras) la extracción de ambos riñones y el posterior implante se realizó mediante cirugía abierta convencional a través de una laparotomía media.
- **Grupo B:** Otro grupo de 10 animales (5 machos y 5 hembras) fueron sometidos a una nefrectomía derecha laparoscópica. Tras el clampaje y sección del pedículo vascular, se realizó una laparotomía media y se les practicó una nefrectomía izquierda y el implante.



En el diseño experimental se han descrito 3 fases

- Protocolo quirúrgico y anestésico
- Recogida de muestras
- Análisis de muestras

4.2.2: Protocolo quirúrgico y anestésico

4.2.2.1: Preoperatorio.

El día de la intervención se premedicaba al animal mediante la inyección intramuscular de zoletil (tiletamina/zolacepam)(3 mg/kg),

xilacina (2 mg/kg) y atropina (0.01 mg/kg). Cuando quedaba abolido el reflejo de estación (imposibilidad del animal para permanecer de pie), era transportado desde la corralina hasta el prequirófano, donde era pesado, lavado y rasurado. Igualmente se le colocaba una vía periférica a nivel de una vena auricular de 20 G y 2,5 cm. de longitud que se fijaba con esparadrapo.

Se procedía a continuación a trasladar al animal a la mesa de quirófano, donde se le colocaba en posición de decúbito supino sobre una manta térmica para controlar la temperatura (Imagen 5).



Imagen 5: Imagen del animal en la mesa de quirófano antes de ser intubado.

4.2.2.2: Anestesia.

Tanto la inducción como el mantenimiento de la anestesia se realizó mediante la inhalación de isofluorano al 2%. Durante la intervención, la analgesia se llevaba a cabo con fentanilo endovenoso

(EV) a dosis de 1.5-3 mg/kg.

Durante la cirugía se administraba suero Ringer Lactato a dosis de 10 ml/kg/hora, y antes de la reperfusión se administraban 40 mg de furosemida EV para favorecer la diuresis. En el momento de despertar al animal se le administraba 1 ml de buprenorfina como analgesia postoperatoria.

Como profilaxis antibiótica se administraba antes de iniciar la intervención 1gr de cefazolina EV, y al finalizar una dosis de 15 mg/kg de amoxicilina-clavulánico.

4.2.2.3: Ventilación.

La preoxigenación se llevaba a cabo con mascarilla de Hall. Tras comprobarse un reflejo laríngeo negativo, se procedía a la intubación con un tubo endotraqueal de 7 mm. La ventilación mecánica se mantenía con el respirador veterinario Model 2000 de Hallowell EMC, manteniendo una fracción de inspiración de oxígeno (FiO₂) de 100% con una presión inspiratoria pico máxima (PIP max) de 20 cm H₂O, un volumen corriente de 10-15ml/kg y una presión positiva intermitente (PEEP) de 5 cm. de H₂O.

4.2.2.4: Canulación.

Una vez intubado, se procedía al entallado de la zona paratraqueal derecha, practicando en condiciones estériles una incisión de 10 cm, y la disección por planos hasta identificar la vena

yugular y arteria carótida internas, que eran canuladas mediante un catéter de 2,1 mm. de diámetro para el mejor manejo de la sueroterapia, obtención de presión venosa y arterial, así como extracción de muestras analíticas al inicio y final de la cirugía y en los días posteriores.

4.2.2.5: Monitorización.

En todo momento el animal permanecía monitorizado mediante:

- Presiones centrales arteriales y venosas.
- Temperatura a través de un sensor intraesofágico.
- Capnografía.
- Pulsioximetría, mediante un pulisoxímetro colocado en la cola (y si estaba cortada, en el pabellón auricular o la lengua).
- Concentraciones espiradas de CO₂.
- ECG, mediante 3 electrodos colocados en el tórax.
- Gasometrías arteriales al inicio de la cirugía y tras la perfusión del injerto.

4.2.2.6: Cirugía.

Grupo A: Extracción vía abierta

1. Colocación de los animales en decúbito supino y entallaje esteril del campo quirúrgico, tras lo cual se les practicaba una

laparotomía media.

2. Disección del riñón derecho, sutura de los vasos a nivel distal, manteniendo 15 minutos de isquemia caliente, y sección de los mismos, con conservación del uréter.
3. Nefrectomía izquierda y obtención de biopsia de ese riñón.
4. Colocación del riñón derecho en recipiente con hielo y perfusión arterial por gravedad con solución de Wisconsin a 4°C mediante un abbocath de 20 G hasta obtener líquido claro por la vena renal.

Grupo B: Extracción renal Laparoscópica

1. Colocación de los animales en decúbito lateral izquierdo y entallaje esteril del campo quirúrgico.
2. Creación un neumoperitoneo mediante inyección de CO₂ con aguja de Veress a nivel de la línea abdominal media, con una presión durante todo el acto de 15 mm. Hg.
3. Colocación de un primer trocar de 10 mm en la línea axilar anterior a nivel de la última costilla, por el que se introducía una óptica con ángulo de 30 grados. Posteriormente colocación bajo visión de tres trócares más, uno de 10 mm. y otros dos de 5 mm., en forma de rombo con el primero (Ver Imagen 6).
4. Localización del uréter derecho, que era disecado desde el cruce con los vasos ilíacos hasta llegar al pedículo renal. El riñón no se desprendía de la cara posterior del peritoneo hasta el final del acto,

dado que esto hubiera dificultado la disección del pedículo.

5. Disección de arteria y vena renales, ligadura con hemolocks® (clips vasculares) y sección de las mismas dejando la máxima longitud posible. El tiempo fijado de mantenimiento del neumoperitoneo era de 45 minutos.

6. Colocación del animal en decúbito supino y laparotomía media siguiendo los orificios de los 3 trócares más mediales (Ver figura 6).

7. Nefrectomía contralateral y obtención de una primera biopsia de ese riñón.

8. Colocación del riñón derecho en un recipiente con hielo y perfusión arterial de líquido de Wisconsin según la técnica descrita anteriormente. El tiempo de isquemia caliente no debía ser superior a 15 minutos.



Imagen 6: Colocación del animal y de los trocares para la nefrectomía laparoscópica.

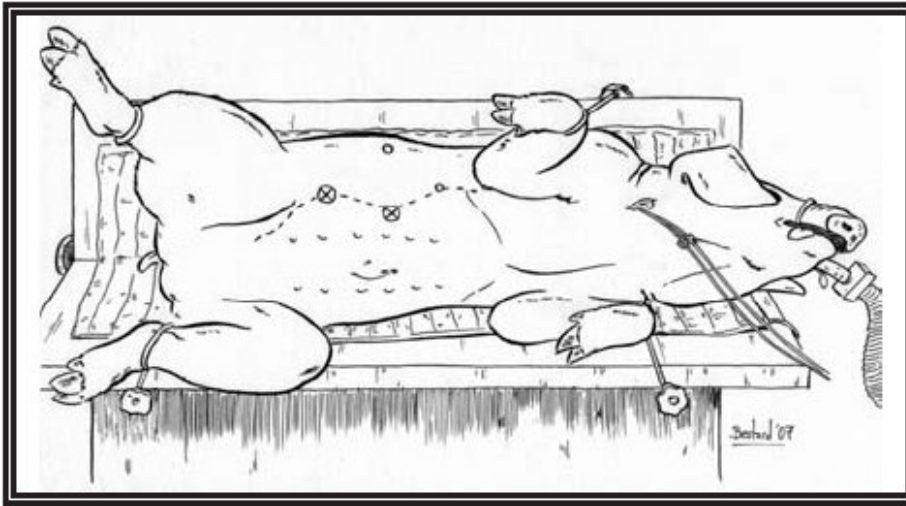


Figura 6: Gráfico de la disposición de los trócares y trayecto de la laparotomía.

(tomado de Bestard et al, 2008)

Implante Renal:

1. Disección de la vena cava inferior y arteria aorta.
2. Clampaje de la vena cava con clamp de Satinsky y venotomía con bisturí frío.
3. Anastomosis término-lateral con 2 suturas semicontinuas de prolene de 6 ceros.
4. Lavado del interior de la anastomosis con solución de heparina al 0.1% para evitar trombosis.
5. Clampaje con un bulldog de la vena renal, comprobación de la estanqueidad de la sutura y desclampaje de la vena cava.
6. Clampaje de la aorta con clamp de Satinsky y arteriotomía con bisturí frío.
7. Anastomosis termino-lateral de la arteria renal con una sutura

continua de prolene de 6 ceros.

8. Lavado del interior de la anastomosis con solución de heparina al 0.1%.

9. Colocación de un bulldog a nivel de arteria renal, comprobación de la estanqueidad de la sutura y desclampaje de la arteria aorta.

10. Toma de una segunda biopsia con bisturí frío a nivel del polo superior del riñón y hemostasia de la misma con punto de vicryl de 2/0. Retirada de los bulldogs y toma de una tercera biopsia en el polo renal inferior a los 5 minutos de la reperusión, procediendo a la sutura hemostática de la misma como se describe anteriormente.

11. Cierre de piel y fascias por separado con suturas continuas de seda del cero.

12. Disección de un trayecto subcutáneo desde la incisión paratraqueal hasta la zona dorsal del cuello por donde se hacían pasar las vías centrales hasta el exterior (tunelización). Dichas vías se fijaban a la piel con seda de cero para practicar posteriores extracciones sanguíneas.

13. Cierre de incisión paratraqueal con seda del cero.

4.2.2.7: Postoperatorio.

Una vez finalizada la intervención se suspendía la administración de anestésico y se comprobaba el posterior despertar del animal mediante el reflejo podal, esperando la aparición del reflejo de masticación para proceder a la extubación. Una vez extubado se proseguía con ventilación manual con mascarilla de Hall durante unos 20 minutos, tras los cuales el animal era trasladado a la corralina donde se le facilitaba pienso y agua "*ad libitum*". La pauta analgésica en los días posteriores consistía en buprenorfina intramuscular los 3 primeros días a dosis de 0.02 mg/kg. Si se observaban posturas anormales (espalda curvada, inmovilidad...), taquipnea o taquicardia, se administraba una segunda dosis del analgésico.

A las 48 horas se administraba una segunda dosis de amoxicilina-clavulánico, y si el animal presentaba fiebre superior a 38,5°C o valores de leucocitosis superiores a 15.000/mcL se repetía la administración cada 48 horas hasta que cediesen.

4.2.2.8: Trasplantectomía.

A la semana del trasplante se repetía el mismo protocolo anestésico y se practicaba la tansplantectomía a través de la misma incisión de laparotomía previa. Una vez el animal quedaba anéfrico se procedía a su sacrificio mediante una sobredosis de pentobarbital (150 mg/kg).

4.2.3: Recogida de muestras

4.2.3.1: Muestras sanguíneas.

Se realizaron análisis sanguíneos a través de la canulación de la arteria catótida y la vena yugular interna, dejando dichos catéteres tunelizados hasta el final del experimento. Las muestras fueron tomadas en el preoperatorio, postoperatorio inmediato, día 1, día 3 y día 7 (Tabla 14).

Tabla 14: Determinaciones Séricas					
	Preoperatorio	Postoperatorio	Día 1	Día 3	Día 7
Grupo A	X	X	X	X	X
Grupo B	X	X	X	X	X

En cada determinación se obtuvieron 9.5ml de sangre: 3.5ml en un tubo con heparina para la determinación de los niveles de creatinina y urea séricas, así como de sodio y potasio; 3ml en un tubo con EDTA para la medición de MDA, que se centrifugaba durante 10 minutos a 4000 rpm a 21°C, y era congelado a -80°C; y otros 3 ml con EDTA para la realización de un hemograma. Posteriormente se salinizaba la vía venosa con la administración de 10 ml de solución salina estéril al 0.9% para impedir la coagulación del catéter.

4.2.3.2: Muestras tisulares.

Las biopsias de tejido se realizaron a todos los especímenes en 4 momentos (Tabla 15), como única diferencia encontramos que los

especímenes del grupo B habían sido sometidos a 45 minutos de neumoperitoneo a 15 mmHg.

Tabla 15: Determinaciones titulares				
	Muestra nº1: 15 minutos de isquemia caliente	Muestra nº 2: Isquemia caliente + fría	Muestra nº 3: Isquemia caliente + fría + perfusión	Muestra nº 4: Recuperación tras una semana
Grupo A	X	X	X	X
Grupo B	X	X	X	X

- Muestra nº 1: Se le realizaba una biopsia del riñón izquierdo de la que se obtenían 2 fragmentos.
 1. Muestra para anatomía patológica y para la determinación de Kim-1 que se conservaba sumergida en Formaldehído al 10 % para su posterior parafinado.
 2. Muestra para la cuantificación tisular de MDA que se introducía en un eppendorf, se sumergía en nitrógeno líquido y posteriormente se conservaba congelado en una nevera a -80°C para su posterior procesamiento.
- Muestra nº 2: Se realizó el mismo procedimiento biopsiando el polo superior del riñón derecho tras 45 minutos de isquemia fría.
- Muestra nº 3: Se repetía la biopsia en el polo inferior del riñón derecho 5 minutos después de la perfusión del injerto.

- Muestra nº 4: El día 7 se realizaba la trasplantectomía con toma de biosias siguiendo el mismo procedimiento.

4.2.4: Análisis de las muestras

4.2.4.1: Análisis de las muestras sanguíneas.

- **Medición de parámetros bioquímicos:**

La muestras sanguíneas se remitieron al laboratorio clínico de nuestro centro para su cuantificación.

La **determinación de creatinina sérica** se realizó mediante la reacción cinética tamponada de Jaffé (sistema diagnóstico de Boehringer Mannheim). El principio de este método se basa en que, en medio alcalino, la creatinina forma el ácido pícrico, que es un complejo de color amarillo rojizo. La intensidad del color es directamente proporcional a la concentración de creatinina y se determina fotométricamente a 500 nm. La precisión del método de cuantificación se determinó en dos sueros control (Precinorm y precipath, Roche) a dos niveles de concentración.

La **determinación de urea sérica** se realizó utilizando un test enzimático colorimétrico con salicilato, que mide el consumo total del substrato en 30 minutos (test kits de Boehringer Mannheim).

- **Determinación del Malondialdehído (MDA) en plasma ($\mu\text{mol/l}$):**

El MDA se cuantifica mediante la reacción del suero sanguíneo con el ácido tiobarbitúrico (TBA), que forma un aducto coloreado, el cual se detecta cromatográficamente a 535 nm.

4.2.4.2: Análisis de las muestras tisulares.

- **Determinación de parámetros anatomopatológicos:**

Las muestras fueron fijadas en una solución de formol al 10% e incluidas en parafina. La inclusión se realizó con un procesador de tejido Citadel 2000. El punto de fusión de la parafina utilizada fue de 58-60°C. Los bloques de tejido parafinado fueron cortados con un microtomo de rotación de Reichert-Jung 2035 hasta obtener cortes de tejido con un espesor de 3 micras. Estos cortes fueron desparafinados y teñidos con hematoxilina-eosina, ácido periódico de Schiff (PAS) y tricrómico de Masson.

A continuación fueron analizadas al microscopio óptico por el investigador principal del proyecto a simple ciego y los resultados fueron validados por el Servicio de Anatomía patológica del Hospital Vall d'Hebrón. Para su valoración se siguieron los criterios descritos previamente por (Behrends and cols, 2000) en los que se analiza el **daño sufrido a nivel del túbulo contorneado proximal** mediante una escala semicuantitativa (Tabla 16), en los diferentes tiempos evolutivos (Ver Imágenes 7-11).

La determinación del ***infiltrado inflamatorio intersticial por células mononucleadas*** se realizó siguiendo los criterios de Banff que utiliza una escala semicuantitativa para su valoración (Tabla 17) (Ver Imágenes 12-14).

Tabla 16: Score de la descripción del daño histológico	
Store	Descripción
0:	Normal
1:	Túbulos proximales dilatados con disminución del ribete en cepillo
2:	Vacuolización de las células del epitelio proximal con alguna célula necrótica aislada.
3:	Vacuolización de las células del epitelio proximal con células necróticas diseminadas.
4:	Vacuolización de las células del epitelio proximal con grupos de células necróticas.
5:	Zonas confluyentes de necrosis

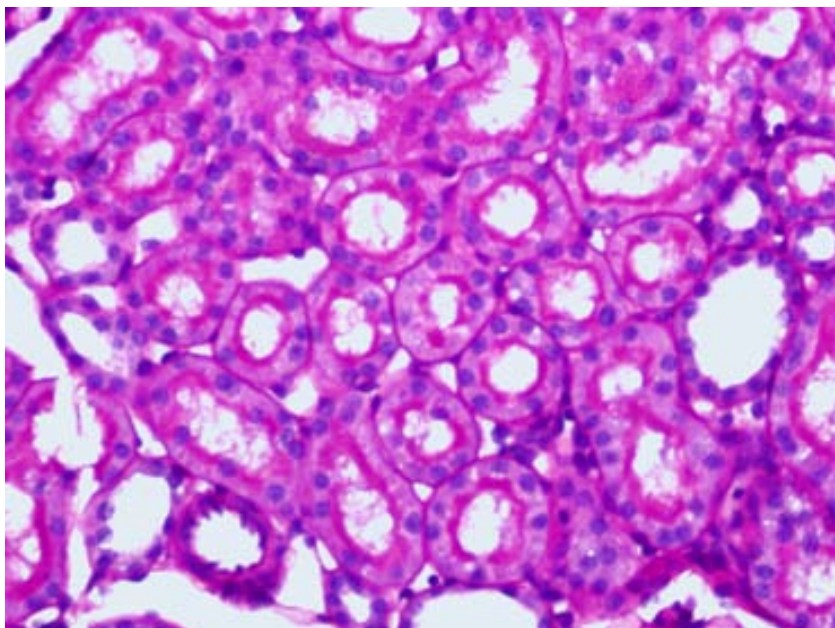


Imagen 7: Fotografía a 40 aumentos y tinción de PAS en la que se aprecia en un corte de túbulos contorneados proximales sin lesión y en la que se aprecia el ribete en cepillo tubular intacto: Score 0.

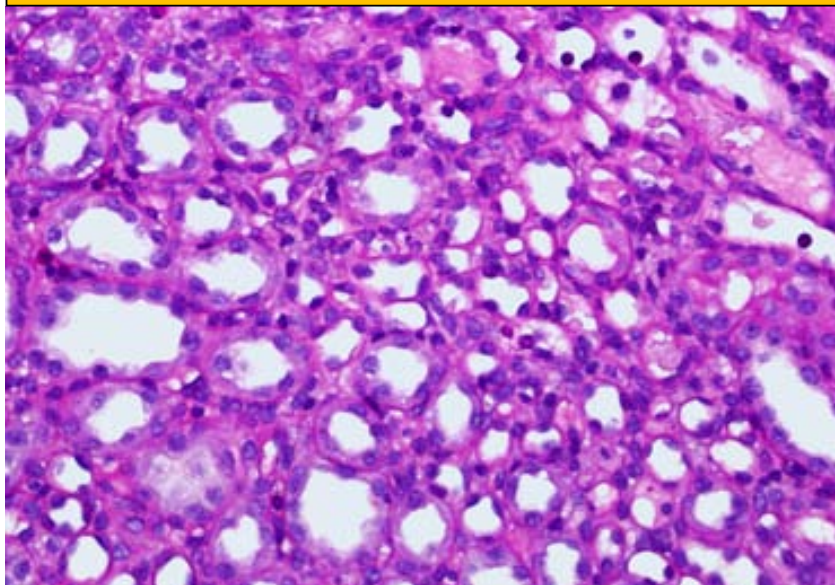


Imagen 8: Fotografía a 40 aumentos y tinción de PAS en la que se aprecia un corte de túbulos contorneados proximales con adelgazamiento celular y pérdida del ribete en cepillo; Score 1.

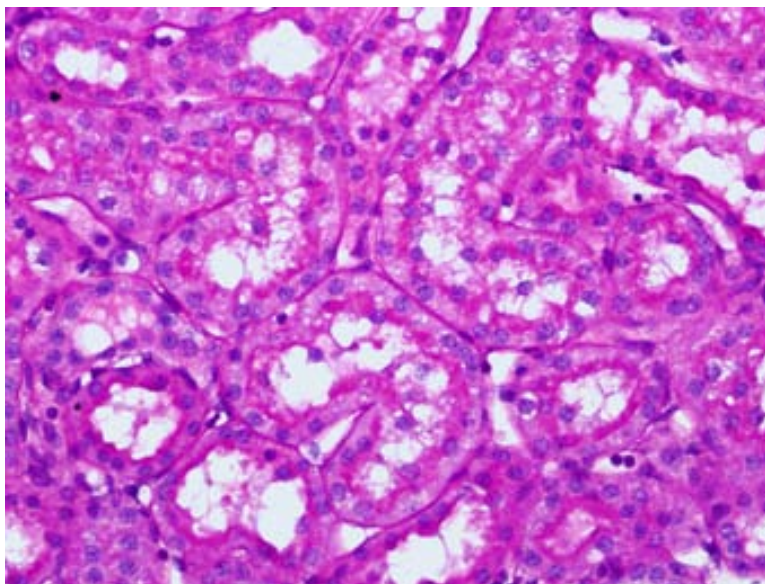


Imagen 9: Fotografía a 40 aumentos y tinción de PAS en la que se aprecia un corte de túbulos contorneados proximales con Vacuolización de las células del epitelio proximal con alguna célula necrótica aislada como la que se señala con la flecha.; Score 2.

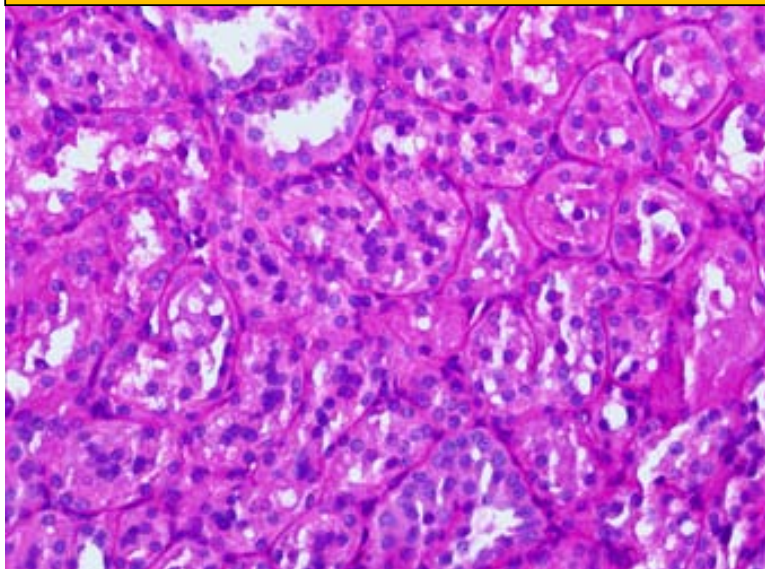


Imagen 10: Fotografía a 40 aumentos y tinción de PAS en la que se aprecia un corte de túbulos contorneados proximales con Vacuolización de las células del epitelio proximal y con células necróticas diseminadas; Score 3.

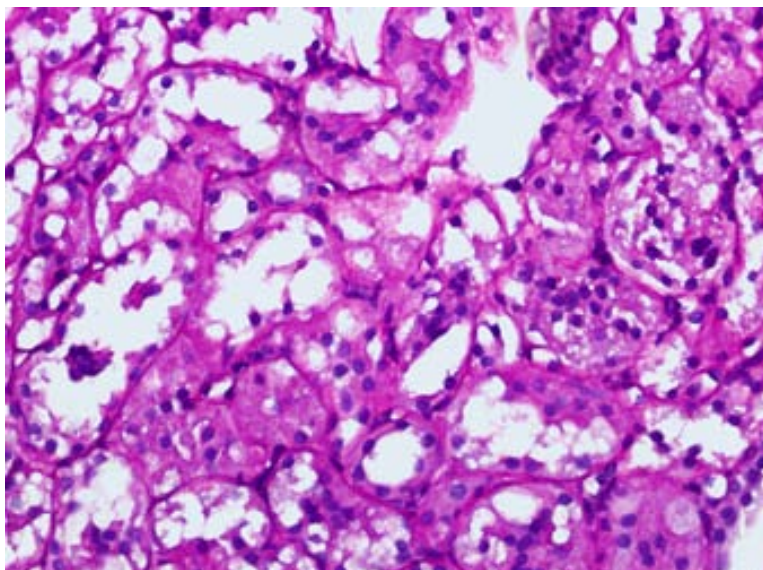


Imagen 11: Fotografía a 40 aumentos y tinción de PAS en la que se aprecia un corte de túbulos contorneados proximales con Vacuolización de las células del epitelio proximal y con grupos de células necróticas; Score 4.

Tabla 17: Criterios de Banff para la cuantificación de infiltrado intersticial
<ol style="list-style-type: none"> 1. Sin infiltrado intersticial o con infiltrado leve (<10%) 2. 10-25% del parénquima con infiltrado intersticial inflamatorio 3. 26-50% del parénquima con infiltrado intersticial inflamatorio 4. > 50% del parénquima con infiltrado intersticial inflamatorio

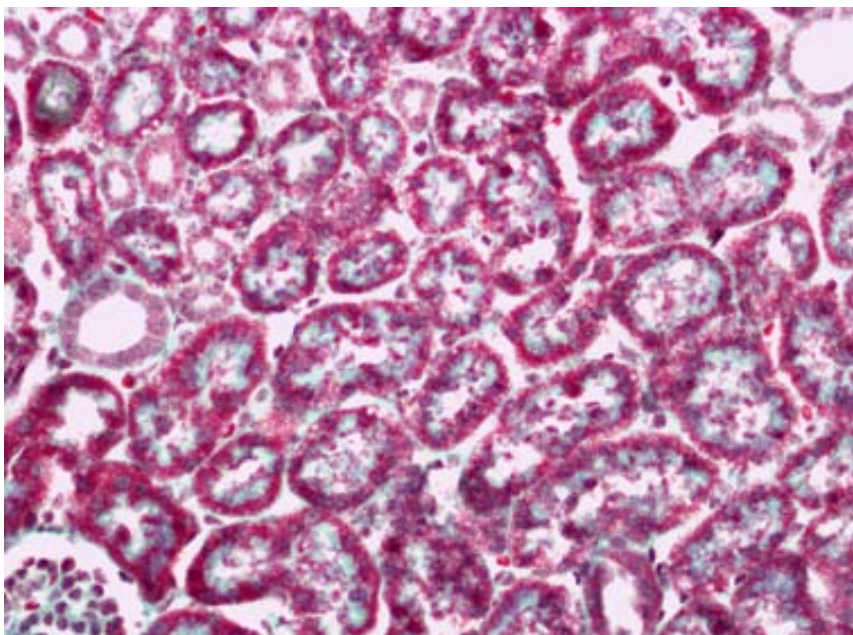


Imagen 12: Fotografía a 40 aumentos y tinción de tricrómico de Masson en la que se aprecia en un corte de túbulos contorneados proximales con ausencia de infiltrado intersticial; Score 1.

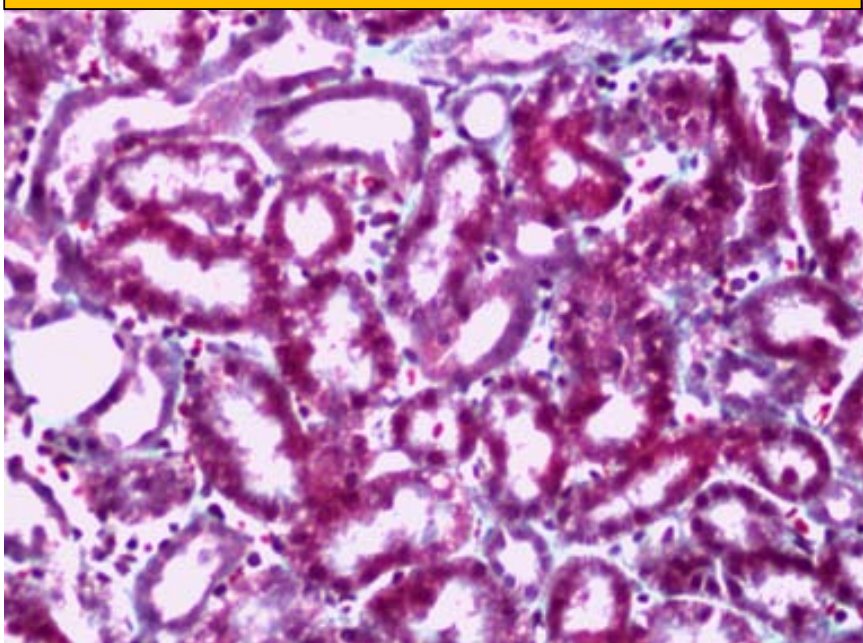


Imagen 13: Fotografía a 40 aumentos y tinción de tricrómico de Masson en la que se aprecia en un corte de túbulos contorneados proximales con un infiltrado intersticial de entre el 10-25%; Score 2.

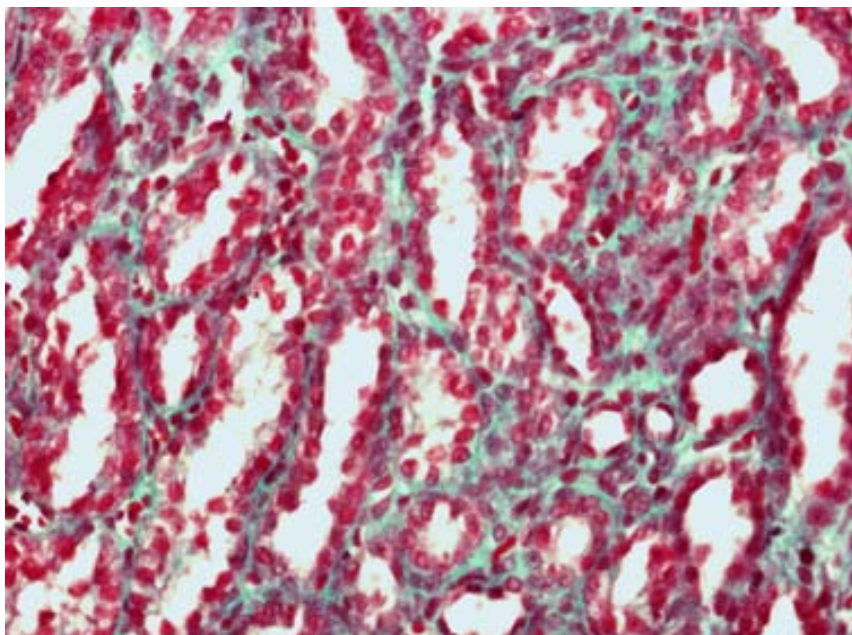


Imagen 14: Fotografía a 40 aumentos y tinción de tricrómico de Masson en la que se aprecia en un corte de túbulos contorneados proximales con un infiltrado intersticial de entre el 26-50%; Score 3.

- **Determinación del Malondialdehído (MDA) en tejido (nmol/l):**

El MDA en tejido se cuantificó homogeneizando la muestra e incubándola con TBA, para posteriormente hacer precipitar dichos aductos, y cuantificarlos de idéntica forma a la determinación plasmática.

- **Determinación inmunohistoquímica de Kim-1 en tejido:**

La determinación tisular de Kim-1 se realizó a partir de las muestras conservadas en formaldehído al 10% y posteriormente parafinadas, de las cuales se realizaron cortes de 3 micras de espesor.

Estos cortes fueron desparafinados e hidratados, para pasar a realizar un desenmascaramiento de los antígenos con tampón citrato. Una vez realizado este proceso, se bloquea la actividad de la peroxidasa endógena, posteriormente se bloquean los sitios inespecíficos con una solución compuesta de albúmina sérica, suero equino y TBS-T, y por último se realiza la inmunotinción con anticuerpos monoclonales murinos altamente específicos que se fijan contra el dominio extracelular de la KIM-1 humana (Dako, Glostrup, Denmark), dejándola incubar *over night* a 4°C. Completado este proceso, se revela y se realiza una contratinción con hematoxilina de Harris, posteriormente se procede a la deshidratación de las muestras y a su montaje en medio orgánico para poder ser analizadas.

La cuantificación de la tinción de Kim-1 se realiza a partir de una escala semicuantitativa siguiendo la fórmula que se refleja en la figura 9. Se realizó un control negativo y un control positivo. Las muestras fueron analizadas al microscopio óptico por el investigador principal del proyecto. Los resultados fueron validados por el Servicio de Anatomía patológica del Hospital Vall d'Hebrón (Ver Imágenes 15-18).

**Figura 7: fórmula de cuantificación de tinción
inmunohistoquímica**

$$\text{HSCORE} = 1x\% + 2x\% + 3x\%$$

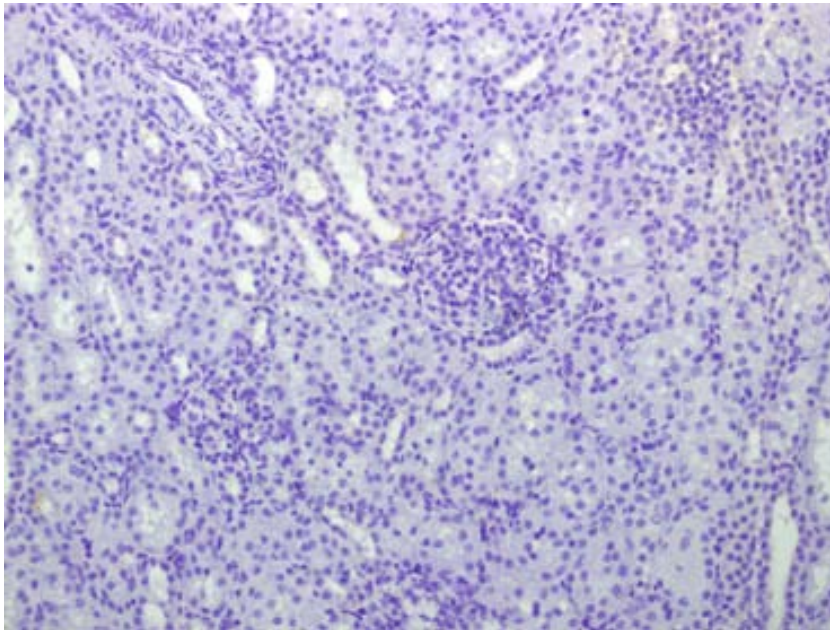


Imagen 15: Fotografía a 10 aumentos de un corte de túbulos contorneados proximales teñidos con hematoxilina de Harris sin anticuerpo primario; control negativo.

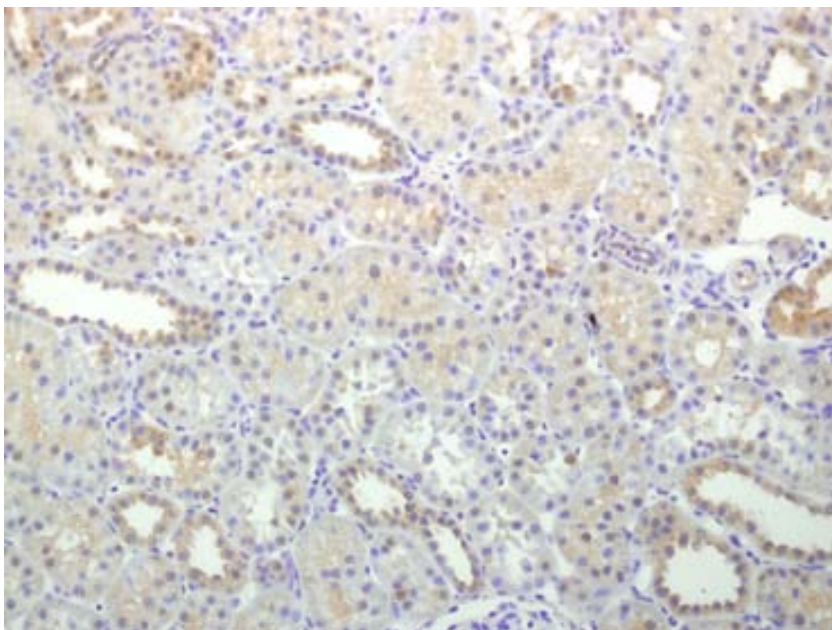


Imagen 16: Fotografía a 10 aumentos de un corte de túbulos contorneados proximales teñidos con hematoxilina de Harris en la que se aprecia una tinción sutil de los túbulos.

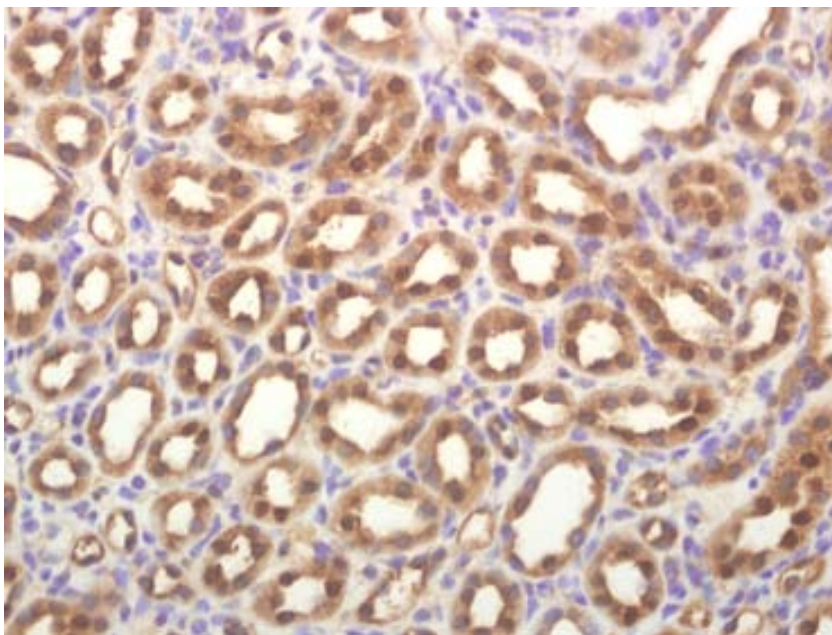


Imagen 17: Fotografía a 40 aumentos de un corte de túbulos contorneados proximales teñidos con hematoxilina de Harris en la que se aprecia una captación moderada de los túbulos.

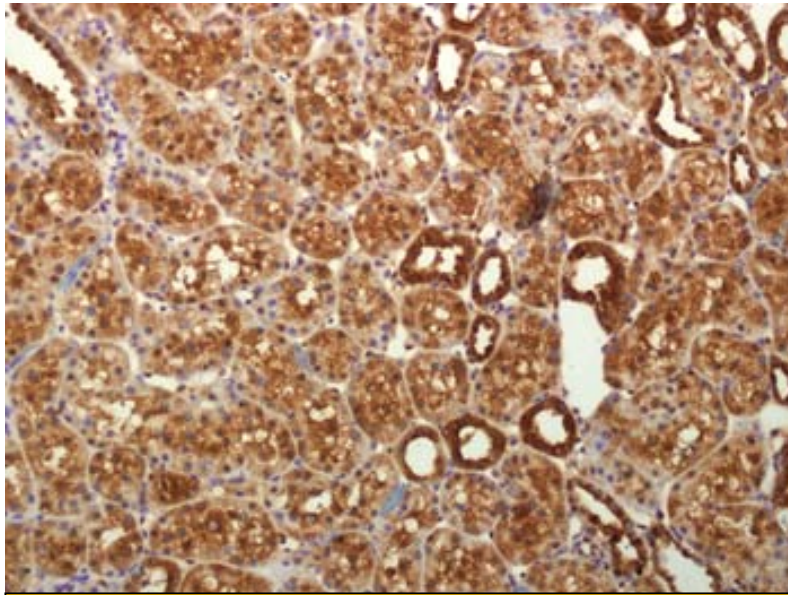


Imagen 18: Fotografía a 40 aumentos de un corte de túbulo contorneado proximal teñido con hematoxilina de Harris en la que se aprecia una captación intensa de los túbulo al anticuerpo.

4.2.5: Medidas correctoras y de punto final

Según el seguimiento diario del estado del animal se establecieron:

1. Medidas correctoras:

- Aumento de la analgesia: Posturas anormales, taquipnea o taquicardia.
- Tratamiento antibiotico: si $T^a > 38.5^{\circ}\text{C}$.

2. Criterios de punto final:

- a. Proceso séptico que no responda al desbridamiento quirúrgico y/o administración de antibiótico.
- b. Shock hipovolemico que no responda a medidas de reposición de líquidos.

4.2.6: Cronograma del experimento

Llegada al estabulario	x										
Dieta hídrica			x								
Premedicación				x							
Pesado, higiene y rasurado				x							
Ventilación e intubación				x							
Canulación				x							
Análítica sanguínea				X x	x		x				x
Nefrectomía derecha con conservación ureteral				x							
Nefrectomía izquierda y toma de biopsia RIzq				x							
Anastomosis				x							
Biopsia RD				X x							
Reperusión				x							
Cierre laparotomía				x							
Valoración clínica					x	x	x	x		x	x
Trasplantectomía											x
Eutanasia											x
Día	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6	7

4.2.7: Estudio estadístico

El análisis de los datos ha sido realizado con el paquete estadístico SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) 12.0.

Los estadísticos utilizados para expresar las medidas de tendencia central fueron la Media y la Mediana.

Los estadísticos utilizados para expresar las medidas dispersión fueron la Desviación Estandar, el Rango y el Intervalo de Confianza (95%).

Entre las pruebas de contraste de hipótesis se utilizó la prueba de Chi cuadrado y/o la prueba exacta de Fisher para establecer la relación entre 2 variables cualitativas. La comparación de variables cuantitativas se realizó mediante el test paramétrico de la T de Student o el test no paramétrico de la U de Mann-Whitney.

En el caso de comparar medianas se utilizó la prueba de la mediana.

Se consideró que existían diferencias estadísticamente significativas cuando $p < 0.05$. En el texto se halla reflejado $p > 0.05$ si no existe significación estadística, y se indica el valor exacto de p cuando sí existe significación.

5. Resultados

5.1: Características de la muestra

Se realizaron un total de 39 intervenciones para obtener 20 experimentos válidos que se ajustaran al diseño del estudio como se refleja en la tabla 18.

Tabla 18: Experimentos realizados y supervivencia/semana

Vía	Sexo	Nº experimentos	Nº experimentos viables
VL	♀	9	5
VL	♂	6	5
VA	♀	14	5
VA	♂	10	5
		39	20

(VL: vía laparoscópica; VA: vía abierta)

Fueron precisos un total de 23 hembras y 16 machos, todos ellos de 4 meses de edad y con un peso medio de 34.50 Kg (29.50-41.80), la media de peso según el sexo fue de 34.13 Kg para las hembras (29.50-40), y de 35.02 Kg para los machos (30-41.8) sin hallarse diferencias estadísticamente significativas entre ellos ($p>0.05$).

Las características de la muestra se reflejan en la tabla 19.

Tabla 19: Experimentos realizados					
Nº Exp	Sexo	Vía *	Peso	Vivo a la semana	
1	♀	VL	36,0	si	
2	♀	VA	35,0	si	
3	♀	VL	34,6	no	
4	♀	VL	36,0	si	
5	♀	VA	32,2	no	
6	♀	VA	35,0	no	
7	♀	VA	37,0	no	
8	♀	VA	36,5	no	
9	♀	VA	31,5	no	
10	♀	VA	30,0	si	
11	♀	VL	29,5	si	
12	♀	VA	32,0	no	
13	♀	VA	36,0	no	
14	♀	VA	30,0	no	
15	♀	VA	32,0	si	
16	♀	VL	38,0	no	
17	♂	VA	32,0	si	
18	♂	VL	37,0	si	
19	♂	VA	33,0	no	
20	♂	VA	37,0	no	
21	♂	VA	32,0	si	
22	♂	VL	38,0	no	
23	♂	VA	38,5	no	
24	♂	VA	30,0	si	
25	♂	VA	33,0	si	
26	♂	VL	33,0	si	
27	♂	VA	31,0	si	
28	♂	VL	33,0	si	
29	♂	VL	35,0	si	
30	♂	VA	40,0	no	
31	♂	VA	36,0	no	
32	♀	VA	40,0	si	
33	♀	VL	34,0	no	
34	♀	VA	32,5	no	
35	♂	VL	41,8	si	
36	♀	VL	31,0	si	
37	♀	VL	37,0	no	
38	♀	VL	35,2	si	
39	♀	VA	34	si	

(* VL: vía laparoscópica; VA: vía abierta)

5.2: Número de experimentos y supervivencia

La supervivencia global de los animales a la semana fue del 51.28%. Desglosando los resultados según el grupo de estudio, encontramos una supervivencia en función del sexo del 43.48% en las hembras, respecto al 62.50% en los machos ($p>0.05$), en cuanto a la vía de abordaje, la supervivencia en el grupo de cirugía abierta fue del 41.67% respecto, a un 66.67% para la vía laparoscópica ($p>0.05$) (Ver tabla 20).

Tabla 20: Supervivencia en función de los grupos de estudio			
	♀	♂	Total
V. Laparoscópica	55.50%	83.30%	66.67%
V. Abierta	35.70%	50%	41.67%
Total	43.50%	62.50%	

Entre los motivos de esta alta mortalidad encontramos que 14 animales (73.68%) murieron durante la cirugía o en el postoperatorio inmediato, y los otros 5 (26.32%) durante los 2 días siguientes a la intervención.

De los que presentaron una muerte precoz, 11 de ellos fallecieron de forma súbita tras mantener unas constantes correctas durante toda la cirugía y presentar una taquicardia auricular mantenida que no respondió a fármacos. En 6 de estos casos fue practicada una autopsia que evidenció en 5 de ellos focos

neumónicos, y en otro, una pericarditis masiva. Los otros 3 casos estuvieron relacionados con un sangrado intraoperatorio importante, y con una caída accidental del tubo de ventilación.

Tras los hallazgos de focos neumónicos se acordó conjuntamente con el Servicio de Veterinaria el cambio de granja con un descenso importante de la mortalidad a partir de ese momento, 62.50% antes del cambio y 39.13%, después.

En cuanto a la relación entre la vía de abordaje quirúrgico y la supervivencia en relación con el cambio de granja, se mantiene una supervivencia alta en el grupo laparoscópico 60% antes, y 70% después del cambio ($p>0.05$); mientras que en el grupo de cirugía abierta la supervivencia aumentó claramente tras el cambio de un 27.30% a un 53.85% ($p<0.05$) (Ver tabla 21).

Tabla 21: Supervivencia de los experimentos en relación con el cambio de granja y la vía de abordaje			
	Antes del cambio	Después del cambio	p
V. Laparoscópica	60%	70%	$p>0.05$
V. Abierta	27.3%	53.85%	$P<0.05$

Se ha de decir que se alternaba un procedimiento laparoscópico con uno abierto de manera que al ir adquiriendo habilidad en la técnica quirúrgica no se viera un grupo más afectado que otro, pero que el brote de epidemia de neumococo en la primera granja coincidió con el procedimiento vía abierta, y que hasta que no se consiguió que sobreviviera un espécimen vía abierta no se inició un

nuevo procedimiento laparoscópico, lo cual pudo afectar a la alta mortalidad en este grupo.

Las diferencias en cuanto a supervivencia encontradas en función del sexo también estuvieron en relación con dicho cambio; tenemos una supervivencia para las hembras del 37.50% antes del cambio de granja con respecto a un 57.14% después. En esta primera fase sólo se estaba interviniendo hembras, por lo que este hecho también pudo haber afectado a las diferencias en supervivencia encontradas entre los sexos (Ver tabla 22).

Tabla 22: Supervivencia de los experimentos en relación con el cambio de granja y el sexo				
	Antes del cambio	Después del cambio	Total	P
♀ V. Laparoscópica	60%	50%	55.5%	P>0.05
♀ V.Abieta	27.3%	66.7%	35.7%	P<0.05
Total	37.5%	57.14%	43.5%	

5.3: Resultados quirúrgicos y evolución

En los 39 procedimientos se realizó la cirugía completa, cuyo informe detallado quedaba registrado en el formulario de ficha quirúrgica (Anexo, pg: 175) , los resultados se recogen en la tabla 23.

El tiempo medio total de anestesia fue de 268.44 minutos (165-390 min), sin encontrarse diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de cirugía abierta y laparoscópica, 266.04 vs 272.27 minutos respectivamente. Igualmente no hallamos diferencias en cuanto a los tiempos quirúrgicos, si bien el tiempo medio en los procedimientos laparoscópicos con 201.07 minutos (160-245), es discretamente mayor al de la cirugía abierta convencional con 194.58 minutos (105-280).

Tampoco se demostraron diferencias en el tiempo medio de isquemia caliente que fue de 15.36 minutos (10-25) ni en el de isquemia fría de 98.87 minutos (60-145).

Tabla 23: Tiempos en minutos referentes a la cirugía			
Tiempo (minutos)	Media	Rango	DE
T. Canulación	40,51	20-85	17,426
T. Anestesia	268,44	165-390	41,706
T. Anestesia VL	272,27	240-340	32,447
T. Anestesia VA	266,04	195-390	47,089
T. Cirugía	197,08	120-280	37,973
T. Cirugía VL	201,07	160-245	29,043
T. Cirugía VA	194,58	105-280	43,035
T. Isquemia caliente	15,36	10-25	2,411
T. Isquemia fría	98,87	60-145	22,257
T. Sutura venosa	27,67	10-45	7,561
T. Sutura arterial	23,46	10-50	7,88
(VL: vía laparoscópica; VA: vía abierta)			

Los hallazgos en la anatomía de los pedículos vasculares fueron: en 9 casos (23%) se encontró un pedículo vascular múltiple. De los pedículos múltiples, en 8 de los 9 casos la alteración afectaba al lado izquierdo, 4 de estos 8 casos presentaban un pedículo múltiple en ambos lados, pero mientras que el lado derecho tenía 2 vasos, el izquierdo tenía 3; sólo 1 de los 9 casos tuvo un pedículo derecho múltiple y un izquierdo simple (Ver tabla 24).

Tabla 24: Anatomía vascular de los riñones		
	RD	RIzq
Pedículo vascular simple	11 casos	11 casos
Pedículo vascular múltiple	5 casos	8 casos
	• 4 riñones con 2 pedículo doble	• 4 riñones con pedículo triple
	• 1 riñón con pedículo doble	• 1 riñón con pedículo simple
	• 3 riñones con pedículo simple	• 3 riñones con pedículo doble

En cuanto a los parámetros anestésicos (Ver tabla 25), no se hallaron diferencias estadísticamente significativas en función de la vía de abordaje. Así, encontramos que la diuresis media durante la cirugía para la vía abierta es 86.25, respecto a 117.33 ml en la laparoscópica ($p > 0.05$), la tensión arterial media en la vía abierta es

83.13, frente a 85.56 mmHg en la laparoscópica ($p > 0.05$), y la presión venosa central fue de 5.30 en la abierta y 6.57 mmHg en la laparoscópica ($p > 0.05$).

Tampoco hallamos diferencias significativas en función del género en ninguno de los parámetros analizados. La diuresis durante la intervención quirúrgica fue de 70.73 en la vía abierta, respecto a 117.39 ml en la laparoscópica ($p > 0.05$), la tensión arterial media en la vía abierta fue 83.38, frente a 84.56 mmHg en la laparoscópica ($p > 0.05$), y la presión venosa central fue de 6.88 y 5.03 mmHg en la laparoscópica ($p > 0.05$). En cada cirugía se cumplimentaba un gráfico que se recoge en el anexo, pg 176.

Tabla 25: Parámetros anestésicos							
Vía*	Sexo	Diu**	Rango	TAM+	Rango	PVC ++	Rango
VA	♀	110	50-420	83,58	54-136	4,75	0-14
VA	♂	59,09	50-100	82,18	59-103	6,36	0-15
VL	♀	136,67	50-500	85,44	65-115	4,89	0-11
VL	♂	88,33	30-300	85,83	68-108	9,17	10-19
(*VL: vía laparoscópica; VA: vía abierta; **Diu: diuresis durante la cirugía en ml; +TAM: tensión arterial media en mmHg; ++PVC: presión venosa central en cm agua)							

La recuperación de los animales durante el postoperatorio también fue recogida en un formulario (Anexo, Pg: 177), en ella se valoraban aspectos clínicos como el aspecto del animal, la postura del mismo, su movilidad o comportamiento, la temperatura, el estado de las suturas, así como la ingesta de alimentos y el aspecto de las

heces. Los resultados de dicho seguimiento quedan recogidos en la tabla 26 sin hallarse diferencias en función de la vía de abordaje o del género.

Tabla 26: Resultados de la evolución clínica de los animales durante el postoperatorio							
Variable		1er día	2º	3º	4º	6º	7º
Aspecto	Bueno	20 (100%)	18 (90%)	19 (95%)	19 (95%)	20 (100%)	20 (100%)
	Regular	0	2 (10%)	1 (5%)	1 (5%)	0	0
Postura	Normal	19	17	18	19	20	20
	Tumbado	1	3	2	1	0	0
Ingesta	Si	19	19	19	20	20	20
	No	1	1	1	0	0	0
Ingesta líquidos	Si	20					
Heces	Si	20					
Estado suturas	Bueno	20					
Presencia hemorragias	No	20					
Movilidad	Buena	19	17	18	19	20	20
	Con dificultad	1	3	2	1	0	0
Comportamiento	Alerta	19	18	19	19	20	20
	Se deja tocar	1	2	1	1	0	0
Fiebre	No	18	16	20	20	20	20
	Si	2	4	0	0	0	0

5.4: Resultados del daño tisular

5.4.1: Valoración del daño tubular

El daño en los túbulos contorneados proximales fue valorado para cada espécimen en sus 4 tiempos evolutivos. Aunque en la vía laparoscópica existe una tendencia a presentar mayor daño tisular, no se han hallado diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de cirugía abierta y el grupo laparoscópico en ningún momento del proceso. En la muestra basal el 60% de los especímenes del grupo laparoscópico presenta un mínimo daño tubular, mientras que el sólo el 40% del grupo abierto lo presenta ($p>0.05$). Tras la isquemia ambos grupos presentan un daño equiparable ya que el 60% de ambos grupos presentan un mínimo daño, mientras que el 40% ya presenta vacuolizaciones celulares ($p>0.05$). Tras la reperusión sólo el 30% de los especímenes del grupo laparoscópico se mantiene con un daño mínimo, mientras que lo hace el 40% del grupo abierto ($p>0.05$). A la semana de evolución sólo el 30% del grupo laparoscópico se ha recuperado completamente, mientras que en la cirugía abierta lo ha hecho el 50% ($p>0.05$).

Al valorar las muestras en función del sexo, encontramos que los machos tienen tendencia a presentar un mayor daño tubular en todas las muestras, en especial en la muestra basal y tras la reperusión, sin que las diferencias encontradas lleguen a ser estadísticamente significativas (Ver gráficos 8, 9 y 10).

En la muestra basal el 60% de las hembras no presentan alteraciones estructurales, mientras que el 70% de los machos presentan un discreto daño tubular ($p>0.05$). Tras la isquemia el 70% de las hebras tienen una lesión tubular discreta, mientras que el 50% de los machos la presenta moderada o severa ($p>0.05$). Tras la reperfusión un 50% de las hembras presentan daño moderado o severo con vacuolización o necrosis celular, mientras que para los machos es el 80% ($p>0.05$). A la semana el 50% de las hembras se ha recuperado completamente mientras que sólo lo ha hecho el 30% de los machos ($p>0.05$).

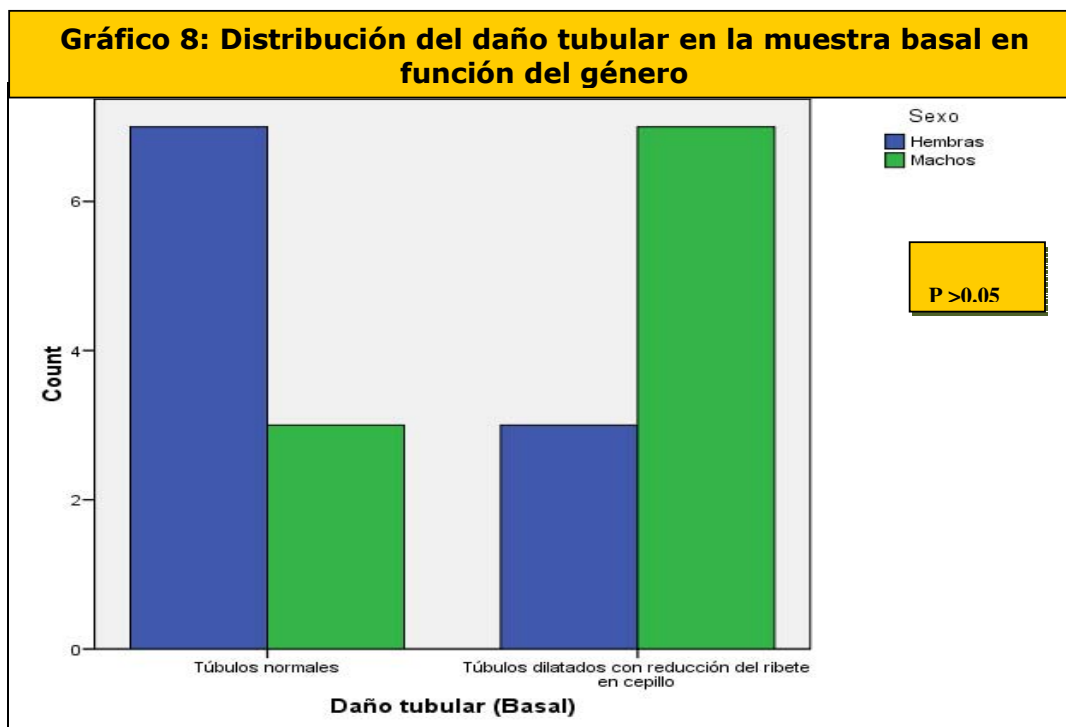


Gráfico 9: Distribución del daño tubular en la muestra tomada tras la isquemia en función del género

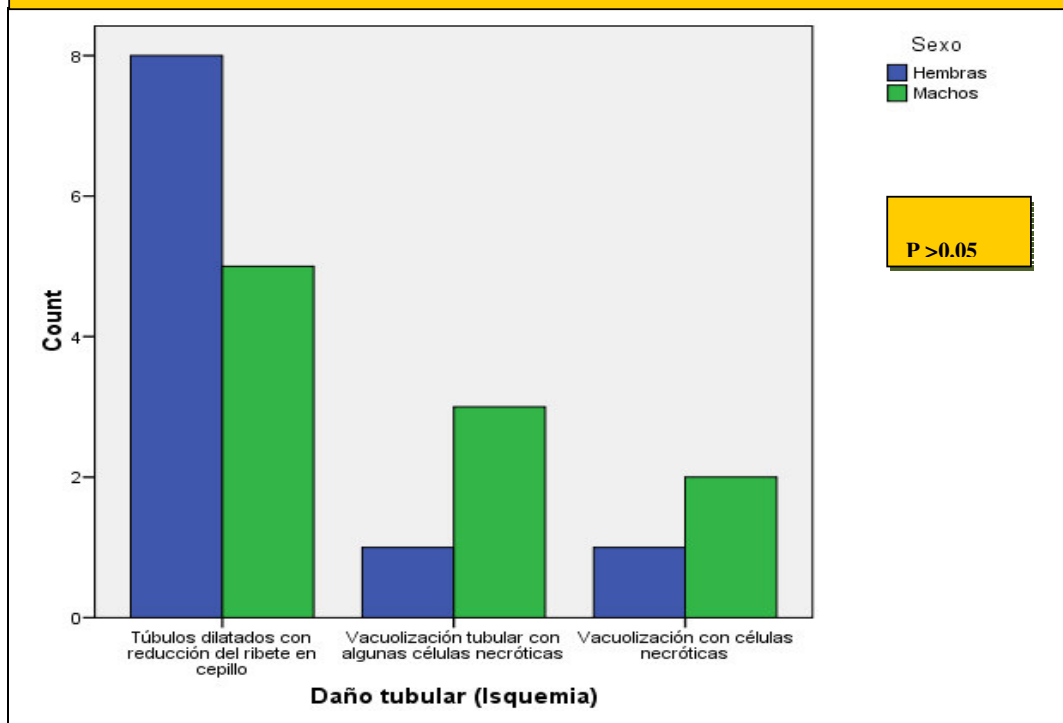
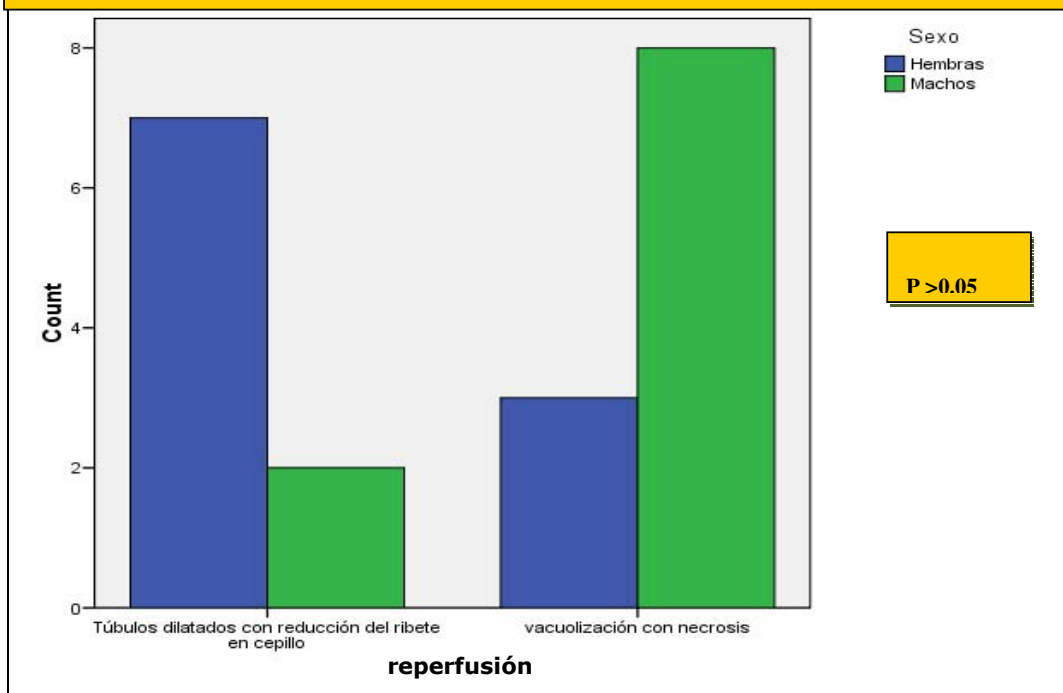


Gráfico 10: Distribución del daño tubular en la muestra tomada tras la reperfusión en función del género

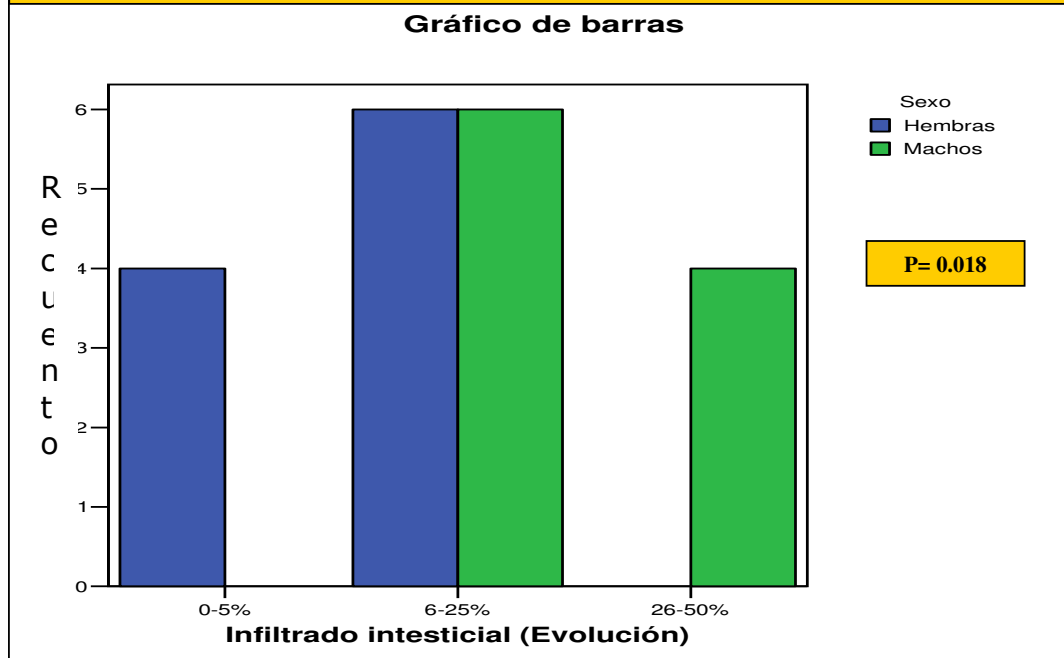


5.4.2: Valoración del infiltrado intersticial

Las muestras laparoscópicas presentan una mayor infiltrado intersticial que las obtenidas por vía abierta, sin que las diferencias halladas sean estadísticamente significativas. En las muestras basales los datos son iguales, el 60% presentan un infiltrado intersticial menor al 5% ($p>0.05$). Tras la isquemia el 80% del grupo laparoscópico tiene un infiltrado entre el 6 y el 25%, mientras que un 30% del grupo abierto aún presenta un infiltrado mínimo ($p>0.05$). Tras la reperfusión el 50% del grupo laparoscópico tiene un infiltrado $> 26\%$, mientras que sólo el 30% de los especímenes abierto alcanza este nivel ($p>0.05$). A la semana de evolución, el 70% del grupo laparoscópico aún presenta un infiltrado entre el 6-25%, mientras que el 30% del grupo abierto ya ha vuelto al nivel mínimo.

En cuanto al género, los machos presentan mayor infiltrado intersticial que las hembras, llegando esta diferencia a ser significativa en la biopsia tomada a la semana de evolución como se refleja en el gráfico 11. Las muestras basales son idénticas en ambos grupos, el 60% de ambos muestra un infiltrado menor del 5% ($p>0.05$). Tras la isquemia el 70% de las hembras y el 60% de los machos tienen un infiltrado entre 6-25% ($p>0.05$). En la muestra tomada tras la reperfusión también se comportan de manera homogénea, pero a la semana de evolución mientras que el 40% de las hembras han vuelto a la normalidad, el 40% de los machos tienen un infiltrado entre el 26-50% ($p=0.018$).

Gráfico 11: Diferencias en el infiltrado intersticial en la muestra tomada tras una semana de evolución en función del género



5.5: Resultados de la valoración del estrés oxidativo

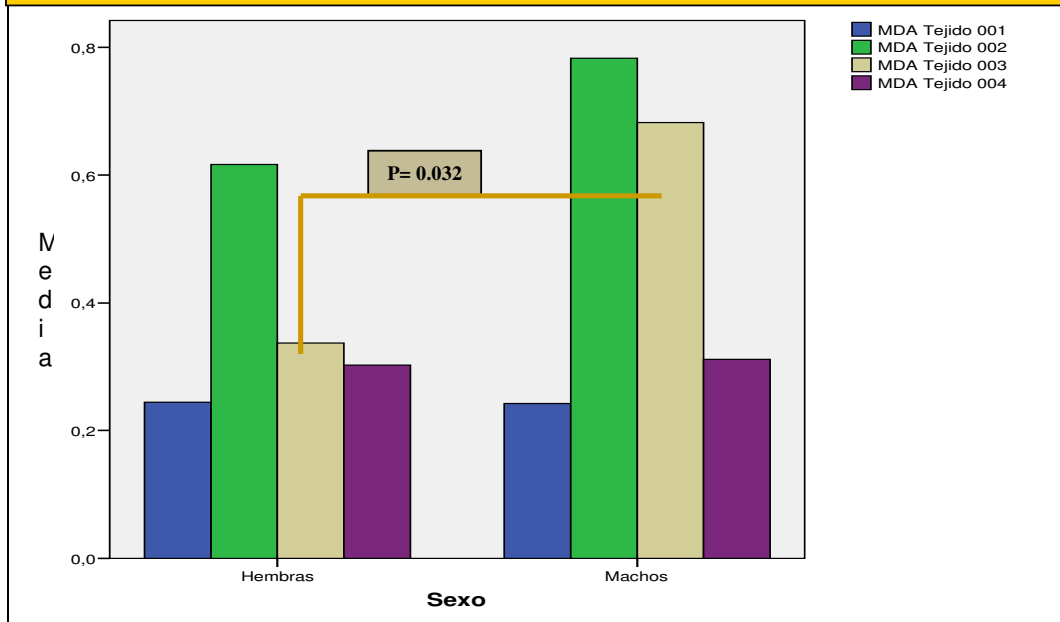
5.5.1: Valoración de las cifras de MDA en suero

No se hallaron diferencias significativas en función de la vía de abordaje o del género. Los niveles séricos de MDA son completamente superponibles y no se modifican a lo largo de todo el proceso.

5.5.2: Valoración de las cifras de MDA en tejido

No se encuentran diferencias estadísticamente significativas en función de la vía de abordaje. Se encuentra que en ambos grupos los niveles aumentan por igual tras la isquemia y tras la reperfusión, para descender hasta prácticamente el nivel basal a la semana de evolución.

Al comparar las muestras en función del género, los machos presentan unos niveles titulares de MDA mayores que las hembras en las 3 últimas muestras sin que las diferencias lleguen a ser significativas. En la muestra basal (MDA tejido 001) los machos tienen unos niveles de MDA de 0.262 vs 0.258 nmol/ml para las hembras ($p>0.05$), tras la isquemia (MDA tejido 002) los niveles aumentan en 0.769 para los machos vs 0.523 nmol/ml en las hembras ($p>0.05$), tras la reperfusión (MDA tejido 003) es de 0.585 vs 0.449 nmol/ml y a la semana de evolución (MDA tejido 004) 0.430 vs 0.261 nmol/ml respectivamente.

Gráfico 12: Valoración del MDA tisular en función del género

Al comparar los 4 subgrupos, vemos que los machos laparoscópicos presentan en las 3 últimas muestras unos mayores niveles titulares que las hembras con cirugía abierta, y que tras la reperfusión estas diferencias son estadísticamente significativas ($p = 0.032$) como se refleja en el gráfico 12.

5.6: Resultados de la valoración de KIM-1 en tejido

Cuando valoramos los niveles de Kim-1 en tejido en función de la vía de abordaje no encontramos diferencias estadísticamente significativas, si bien, en la vía abierta los niveles son discretamente inferiores en las 3 primeras muestras con respecto a la vía laparoscópica para igualarse en la última muestra. Así encontramos unos niveles medios de Kim-1 en la primera muestra (HSCORE001) de 116.50 para la vía laparoscópica vs 78.50 en la vía abierta ($p>0.05$), 121.88 vs 93.70 ($p>0.05$) tras la isquemia (HSCORE002), 107.40 vs 99.70 ($p>0.05$) tras la reperfusión (HSCORE003) y 108.33 vs 121.90 ($p>0.05$) a la semana de evolución (HSCORE004) respectivamente.

Por el contrario, al comparar en función del género encontramos que en este caso las hembras presentan unos niveles mayores de Kim-1 que los machos en las 3 primeras muestras, en especial en la muestras basal, sin llegar a encontrar diferencias estadísticamente significativas, para igualarse dichos niveles en la última muestra como se refleja en el gráfico 13. Así, los niveles basales de Kim-1 para las hembras con respecto a los machos son 111.50 vs 83.50 ($p>0.05$) en la muestra basal, 132.50 vs 85.20 ($p>0.05$) tras la isquemia, 116.90 vs 90.20 ($p>0.05$) tras la reperfusión, y 121.90 vs 108.33 ($p>0.05$) a la semana de evolución.

Al comparar los niveles de Kim-1 tisular en los 4 subgrupos (ver Gráfico 14), encontramos que las hembras con extracción

laparoscópica presentan unos niveles de Kim-1 tisular significativamente superiores con respecto a los machos con extracción vía abierta en la muestra basal ($p = 0.014$).

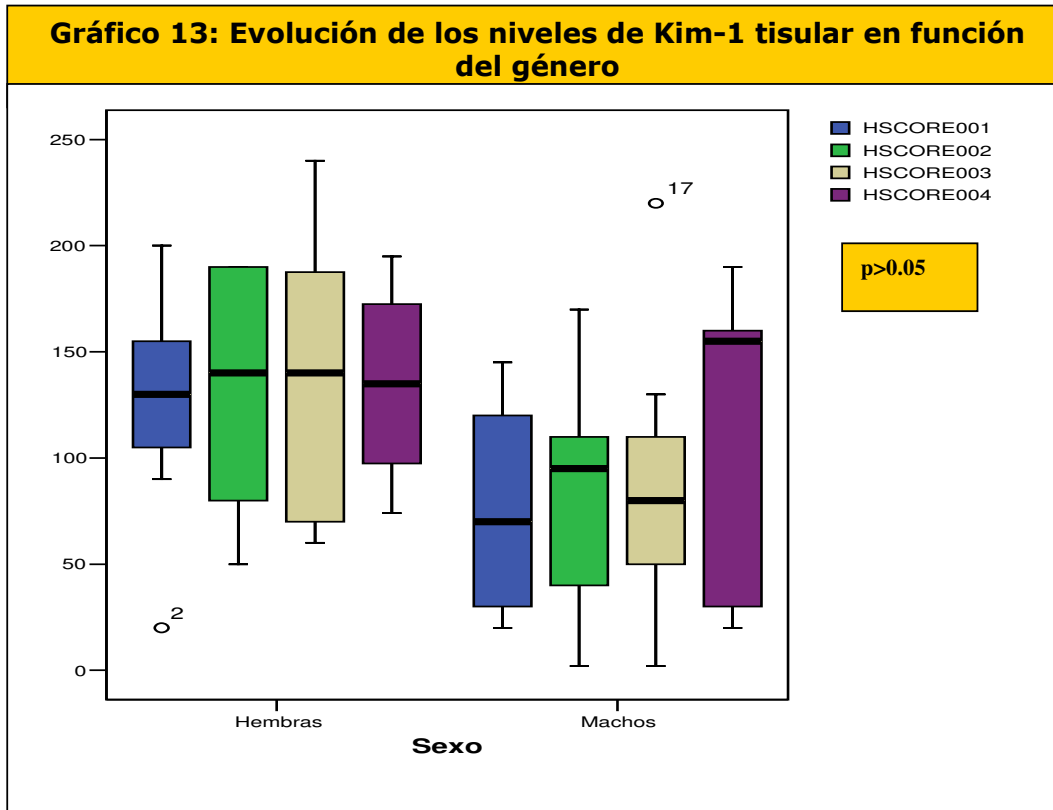
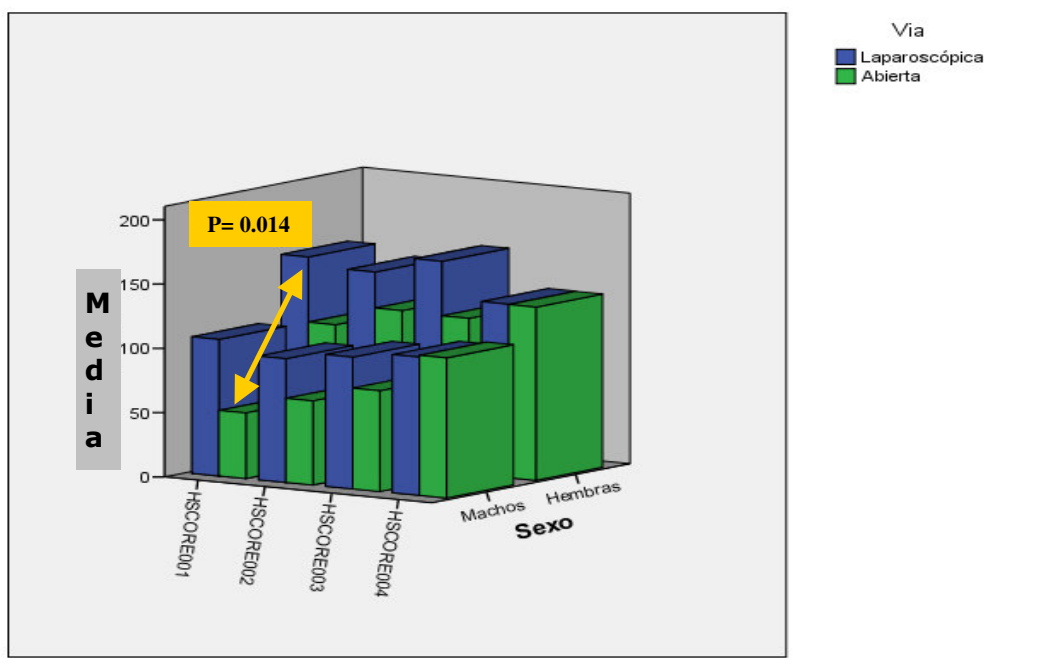


Gráfico 14: Evolución De los niveles de Kim-1 tisular en función de los 4 subgrupos



5.7: Resultados de recuperación funcional

Se valoraron las cifras de creatinina y de urea séricas en función de la vía de abordaje. Los niveles tanto de creatinina como de urea en las muestras preoperatorio (creatinina preop), postoperatoria (creatinina postop) y al primer día del implante (creatinina primer día) son equiparables. Tenemos 1.11 mg/dl en la vía abierta vs 1.12 mg/dl en la laparoscópica en el preoperatorio, 1.96 vs 1.94 mg/dl en el postoperatorio y 5.33 vs 5.56 mg/dl al primer día respectivamente.

Encontramos que la recuperación funcional de las cifras de creatinina al tercer (creatinina 3) y séptimo día (creatinina 7), es más lenta en el grupo laparoscópico con respecto a la cirugía abierta: 6.31 vs 4.31 mg/dl ($p>0.05$), y 4.87 vs 2.12 mg/dl ($p>0.05$) respectivamente, sin que las diferencias sean estadísticamente significativas.

La misma situación se da en las cifras de urea. En el preoperatorio (urea preop), postoperatorio (urea postop) y primer día (urea primer día) las cifras en cirugía abierta y laparoscópica son similares: 14.8 vs 17 mg/dl, 18.8 vs 23.3 mg/dl y 101.4 vs 96.4 mg/dl respectivamente. Sin embargo, la recuperación al tercer (urea 3) y séptimo día (urea 7) es más lenta en el grupo laparoscópico que el de cirugía abierta: 128.4 vs 97.6 mg/dl ($p>0.05$) el tercer día, y 84.8 vs 43.93 mg/dl ($p>0.05$) el séptimo.

Estos datos se expresan en los gráficos 15 y 16.

Gráfico 15: Comportamiento de la creatinina serica en función de la vía de abordaje

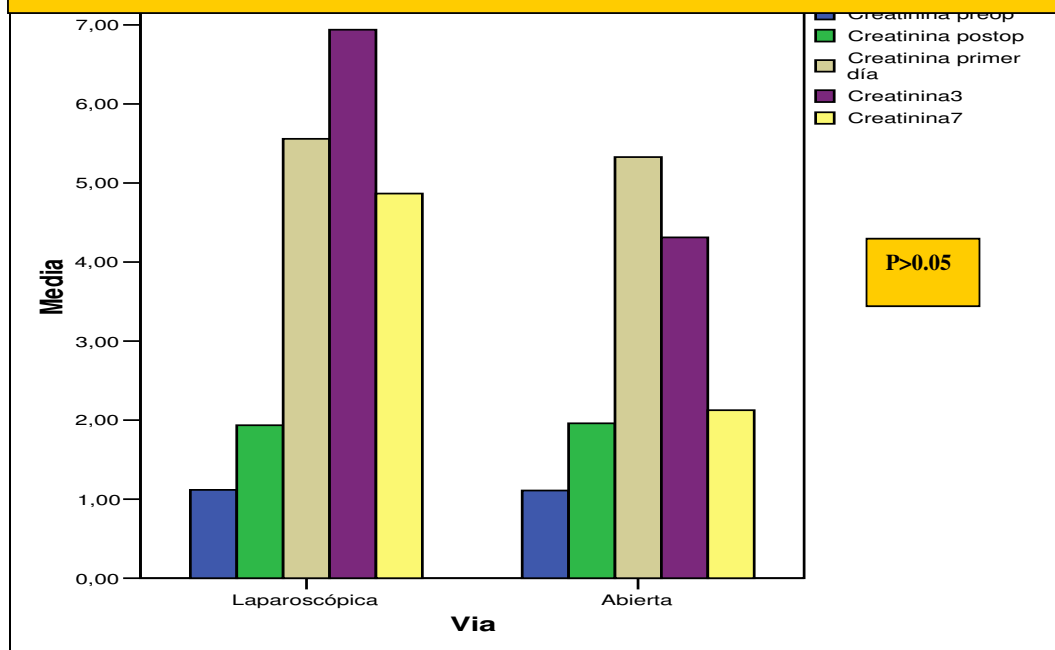


Gráfico 16: Comportamiento de la urea sérica en función de la vía de abordaje

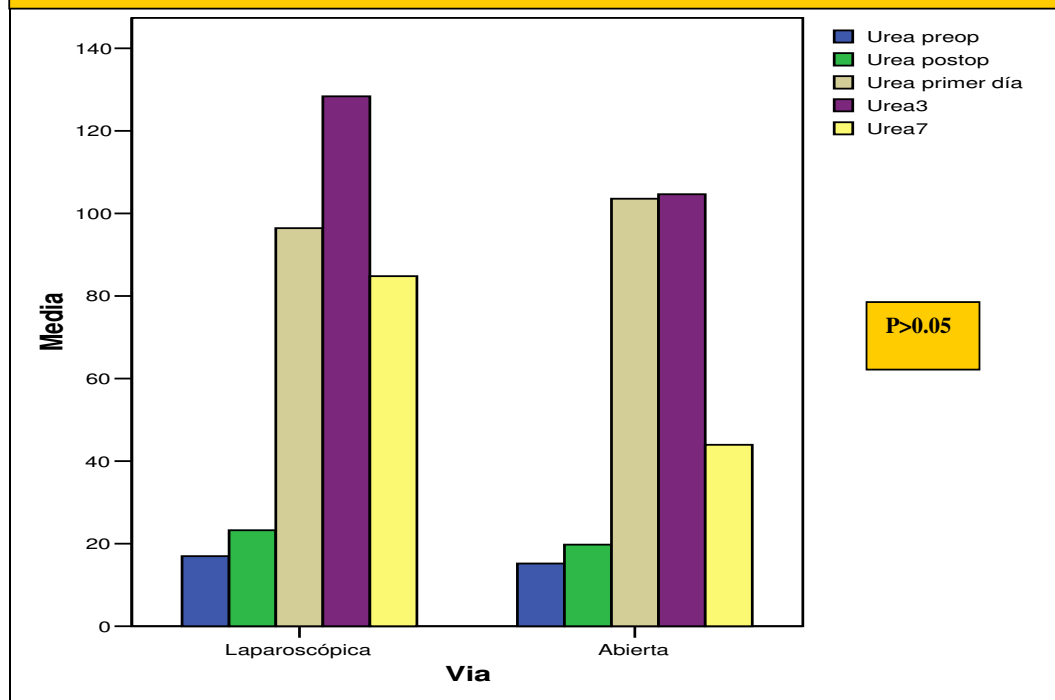
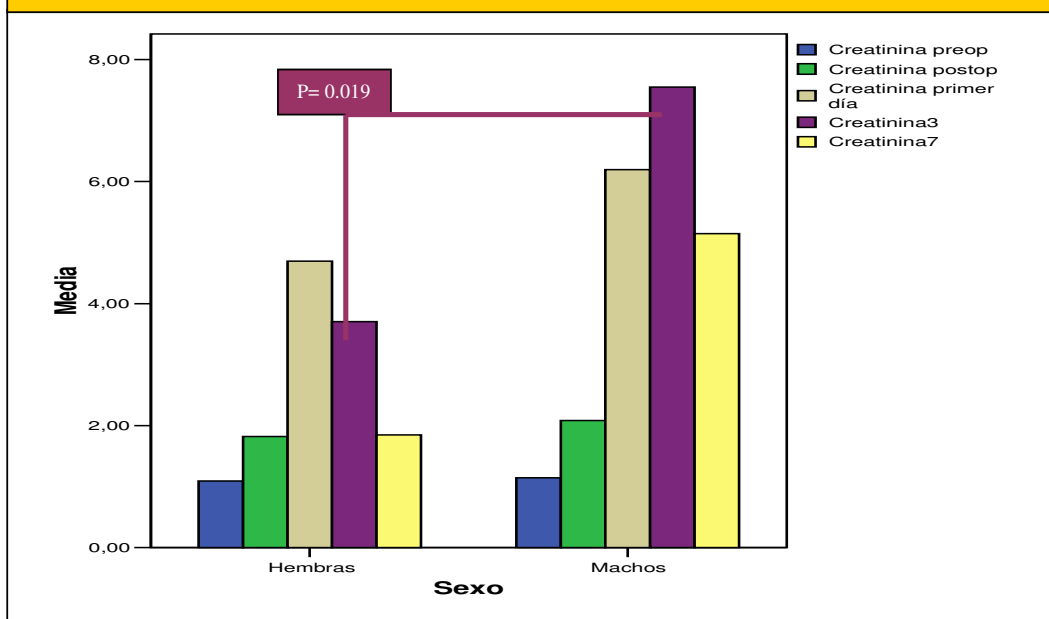


Gráfico 17: Comportamiento de la creatinina sérica en función del género

Así mismo se han valorado las cifras de creatinina y urea séricas en función del género.

Se ha encontrado un claro retraso en la recuperación de las cifras de creatinina de los machos con respecto a las hembras. El primer día del injerto se objetivan unos niveles de creatinina sérica en machos con una tendencia numérica a la significación estadística, llegando a ser estadísticamente significativo al tercer día del trasplante como vemos en el gráfico 17.

Los niveles del preoperatorio y postoperatorio inmediato son equiparables, 1.14 vs 1.08 mg/dl en el preoperatorio, y 2.08 vs 1.82 mg/dl en el postoperatorio, el primer día los machos tienen

con respecto a las hembras unas cifras de 6.20 vs 4.69 mg/dl ($P>0.05$), el tercer día de 7.55 vs 3.70 mg/dl ($p=0.019$), y al séptimo día de 5.15 vs 1.85 mg/dl ($p>0.05$).

Las cifras de urea sérica también reflejan este hecho como vemos en el gráfico 18, siendo estas diferencias estadísticamente significativas en las 3 últimas muestras. Partiendo de unas cifras completamente equiparables en el preoperatorio 19 vs 12.80 mg/dl ($p>0.05$), y en el postoperatorio 25 vs 17.10mg/dl ($p>0.05$), encontramos unas cifras de urea superiores en los machos respecto a las hembras al primer día, 111 vs 82.80 mg/dl ($p=0.002$), 151.10 vs 74.90 mg/dl ($p=0.011$) y 93.40 vs 34.38 mg/dl ($p= 0.037$) respectivamente.

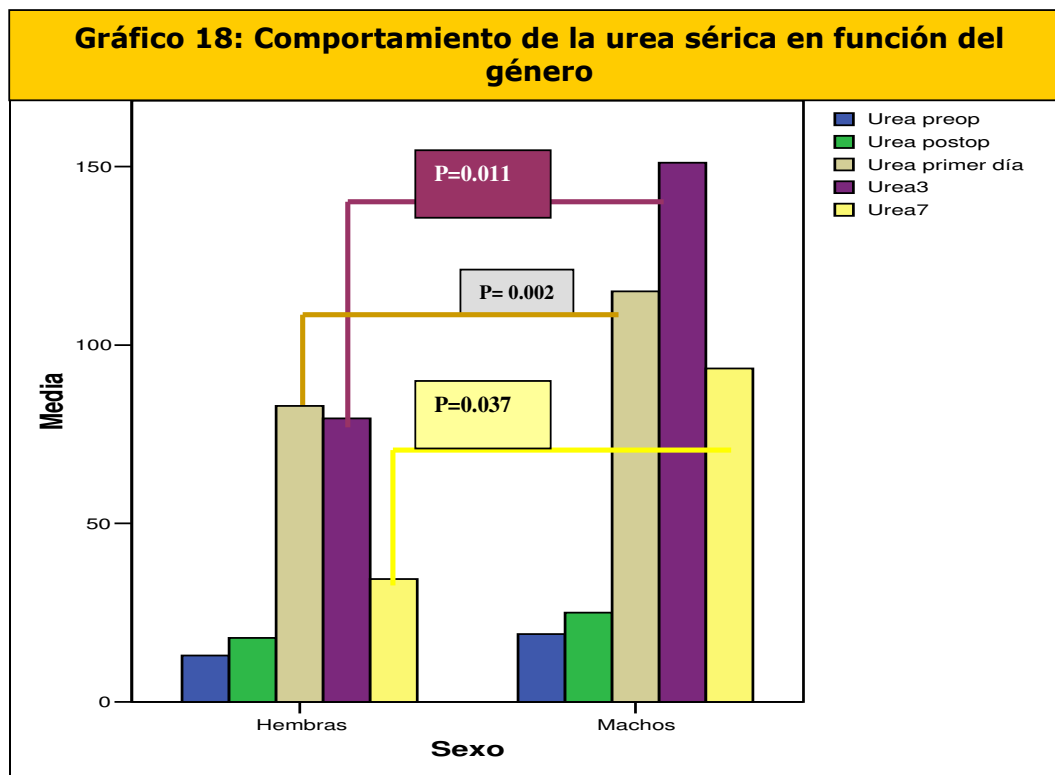
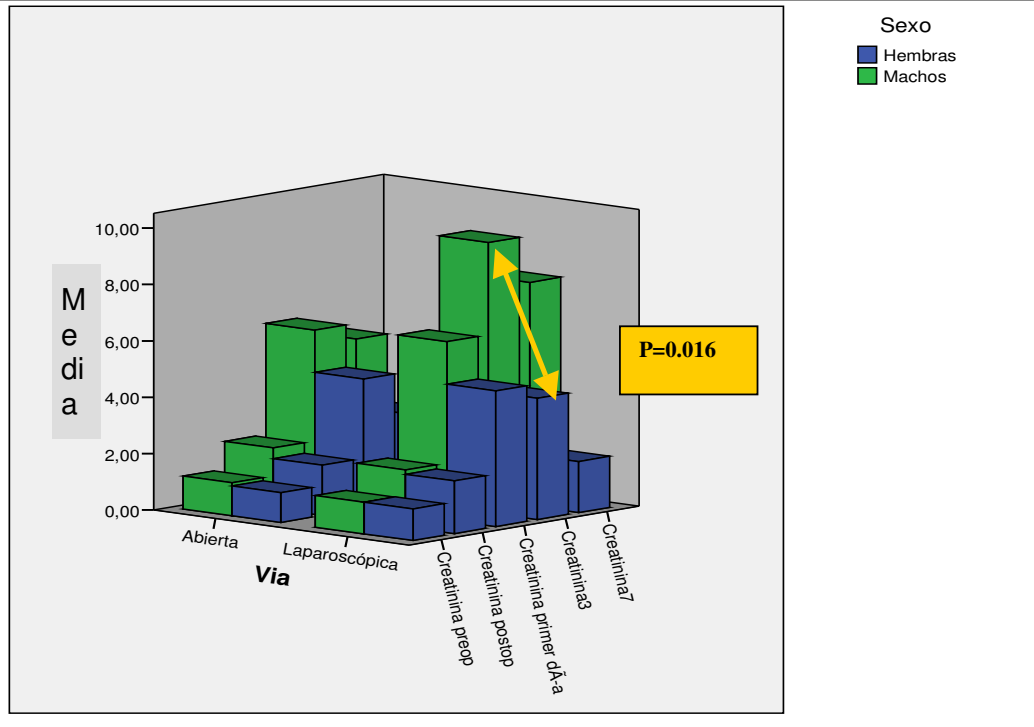


Gráfico 19: Evolución de la creatinina sérica en función de los 4 subgrupos



Al resumir los datos en función de los 4 subgrupos (Ver Gráfico 19), encontramos que las hembras presentan la misma evolución de las cifras de creatinina sérica con independencia de la vía de extracción ($p>0.05$). Sin embargo, los machos con extracción laparoscópica presentan una recuperación funcional más lenta que las hembras, llegando a ser estadísticamente significativa al tercer día del injerto ($p=0.016$).

6. Discusión

La introducción de la laparoscopia en la extracción de los riñones de donante vivo ha supuesto una importante mejoría en la calidad de vida de los donantes, como hemos visto en el capítulo de la introducción. Pero la repercusión que el uso del neumoperitoneo pueda tener sobre los donantes y sobre la evolución del injerto está en discusión. Como hemos expuesto en la introducción, son múltiples los efectos que el uso de gas a presión en la cavidad abdominal tienen respecto al Sistema Cardiovascular, Respiratorio, Metabólico y Renal. Con el fin de identificar dichos efectos y la repercusión que los mismos puedan tener tanto sobre el donante como sobre el injerto, se han realizado multitud de trabajos a nivel de cirugía experimental y en humanos.

El estudio que hemos realizado, pretende evidenciar en un modelo animal extrapolable a humanos, algunos de los efectos que el neumoperitoneo pueda tener sobre el donante y sobretodo sobre el injerto.

Con respecto al donante, los principales efectos descritos son la isquemia de los órganos esplácnicos secundaria a la disminución del flujo sanguíneo (Burgos et al, 2003; Linares et al, 2008; Subirá et al 2008), la oliguria como consecuencia de la compresión del parénquima, la disminución del flujo cardíaco, la compresión ureteral y el aumento de los niveles de Hormona Antidiurética (Burgos et al,

2003; Dunn and McDougall, 2000; Hazebroek et al, 2002), también se han descrito cambios a nivel hemodinámico con un aumento de las resistencias vasculares periféricas (Alishahi et al, 2001; O'Malley et al, 2001), así como alteraciones respiratorias debidas a la absorción de CO₂ y al aumento de presión intrabdominal (O'Malley et al, 2001; Joshi, 2002; Gerges et al, 2006).

En nuestro caso, en comparación con los resultados obtenidos en los anteriores estudios expuestos, no se encontraron problemas anestésicos, y aunque se evidenció una tensión arterial media mayor durante la cirugía en los procedimientos laparoscópicos, ésta no fue estadísticamente significativa (85.56 vs 83.13 mmHg).

En cuanto a las complicaciones quirúrgicas derivadas de la técnica laparoscópica, las que se han descrito con mayor frecuencia son el sangrado por lesiones renovasculares (Burgos et al, 2002; Hsu et al, 2003, Leventhal et al, 2004), y la lesión de órganos adyacentes (Burgos et al, 2002; Chin et al, 2007).

En nuestra serie, a diferencia de las mencionadas anteriormente, no se encontraron complicaciones en ninguno de los 15 procedimientos laparoscópicos que requirieran la reconversión por ninguna complicación derivada de la técnica quirúrgica, tampoco se hallaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la evolución clínica entre ambos grupos.

Otro aspecto a tener en cuenta al plantear la extracción laparoscópica de donante vivo es la lateralidad del riñón escogido

para la donación, por norma general la mayoría de los autores concuerdan en la extracción del riñón izquierdo (Challacombe and Mamode, 2004; Kay et al, 2006; Mandal et al, 2001) ya que la vena renal es significativamente más larga, 38 vs 27 mm, sin que se hallen diferencias estadísticamente significativas en la longitud de la arteria, 32 vs 31mm (Kay et al, 2006).

En las primeras series documentadas en las que se elegía el riñón derecho por encontrar algún inconveniente en el riñón izquierdo, se evidenciaron mayor número de trombosis venosas durante el postoperatorio inmediato (Mandal et al, 2001). Sin embargo, con el perfeccionamiento de la técnica, las posteriores series no han hallado diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la evolución del injerto con respecto a la lateralidad (Challacombe and Mamode, 2004; Kay et al, 2006; Boorjian et al, 2004; Maartense et al, 2004; Lind et al, 2002; Abrahams et al, 2004; Bettschart et al, 2003).

Por el contrario, existen diferentes autores que pese a encontrar un pedículo vascular múltiple en el lado izquierdo, no han encontrado en sus series diferencias estadísticamente significativas en las complicaciones vasculares durante el postoperatorio, ni en el tiempo de isquemia caliente entre los riñones con pedículo normal con respecto a los que presentan múltiples vasos (Hsu et al, 2003; Troppmann et al, 2001; Johnston et al, 2001).

En nuestro caso se escogió para hacer la nefrectomía e implante el riñón derecho, porque pese a que la vena es más corta, se han descrito hasta en un 23.8% más anomalías de los vasos en el riñón izquierdo (Mandal et al, 2001), y al tener que realizar un implante con más vasos podría comprometer la viabilidad del injerto por el riesgo de trombosis principalmente venosa.

En nuestra serie, igual que en los estudios expuestos anteriormente, encontramos un pedículo vascular múltiple en 9 de los casos (23%), encontrando en 8 de los 9 casos el pedículo izquierdo con varios vasos (20.5%), en 4 de estos 8 casos ambos pedículos eran múltiples, pero mientras el derecho era doble, en el izquierdo se hallaron 3 vasos, sólo en 1 de los 9 casos encontramos un pedículo derecho doble con un pedículo izquierdo simple.

De los 5 especímenes (26.32%) que no murieron de forma inmediata a la cirugía y que ésta se produjo durante los 2 días siguientes como consecuencia de un empeoramiento de la función renal, asumimos que lo hicieron por problemas vasculares. De estos 5 casos, en 2 de ellos se trataba de un pedículo múltiple.

6.1: Repercusión anatomopatológica

Existen diversos autores que han valorado el posible daño tisular producido como consecuencia del neumoperitoneo con resultados dispares. Así encontramos que en estudios experimentales con ratones no encuentran diferencias estadísticamente significativas en el daño tubular renal, ni un aumento del infiltrado intersticial a la semana del procedimiento (Hazebroek et al, 2002), ni a los 3 meses (Lee et al, 1999), ni a las 52 semanas (Hazebroek et al, 2003; Lind et al, 2006).

Sin embargo un estudio realizado con cerdos de granja mostró una mayor desestructuración celular con aumento de vacuolas citoplasmáticas y rotura de membranas, así como mayor grado de retracción glomerular y edema tubular en aquellos riñones que fueron extraídos por laparoscopia frente a los extraídos por cirugía abierta durante el postoperatorio inmediato (Subirá et al, 2008).

La dificultad de valorar si estos trabajos experimentales son extrapolables a los humanos, es la imposibilidad de obtener biopsias de los injertos, a menos que presenten algún problema puntual durante el postoperatorio inmediato, que no sea diagnosticable por pruebas de imagen. Por lo tanto es un dato que por el momento no podemos esclarecer.

En nuestro caso aunque no hemos encontrado diferencias significativas a nivel de daño tubular, aunque existe una tendencia no significativa a presentar mayores lesiones tubulares en los riñones

extraídos por laparoscopia que en los extraídos por vía abierta exceptuando la muestra basal.

Tampoco hemos hallado diferencias en la presencia de infiltrado intersticial entre ambos grupo, si bien, existe una tendencia no significativa a presentar mayor infiltrado intersticial en los riñones extraídos por laparoscopia respecto a los extraídos por vía abierta exceptuando de nuevo la muestra basal.

6.2: Repercusión del estrés oxidativo celular y cuantificación de MDA.

En la búsqueda de otros marcadores en los que apoyarnos para predecir de forma precoz el daño renal, se han estudiado diversos productos del estrés oxidativo para intentar buscar una correlación entre los niveles tanto plasmáticos como tisulares de los mismos, y la evolución de la función del injerto. Es conocido que los radicales libres que se producen como consecuencia del estrés oxidativo secundario al fenómeno de isquemia-reperfusión, pueden correlacionarse con la función del injerto tanto a corto como a largo plazo (Kosieradzki et al, 2003 ; Gulec et al, 2006). Uno de los marcadores más utilizados para reflejar este hecho tanto en experimentos con isquemia renal como de otros órganos, principalmente el hígado, es el malondialdehído (MDA). Se trata de un producto de degradación de las membranas lipídicas que nos informa del daño producido por los radicales libres liberados en estos procesos de estrés tisular. Existen escasos estudios realizados en humanos, en los que se encuentra una correlación entre la evolución en las cifras de creatinina sérica y los niveles plasmáticos de MDA (Simic-Ogrizovic et al, 1998; Kosieradzki et al, 2003). Así mismo se ha demostrado que en los donantes que presentan unos niveles séricos de MDA mayores antes de la extracción, los injertos tienen una mayor tendencia a presentar rechazo al ser implantados

(Kosieradzki et al, 2003). Por ello en nuestra serie hemos querido incluir este marcador.

A diferencia de los resultados obtenidos en los estudios anteriores, no hemos hallado diferencias significativas entre los grupos en los niveles séricos ni titulares de MDA.

6.3: Repercusión del estrés oxidativo celular y producción de Kim-1

Otro posible marcador de daño renal que en los últimos años está tomando mayor protagonismo es la Kidney injury molecule-1 (Kim-1), se trata de una proteína de membrana que tiene un ectodominio detectable por anticuerpos monoclonales purificados tanto en ratas como en humanos. También es detectable en orina a través de la misma metodología cuando se produce una proteinuria como consecuencia de la alteración en las proteínas de adhesión secundaria a una agresión renal. Su expresión aumenta en presencia de un daño a nivel de los túbulos contorneados proximales, ya sea de origen isquémico o medicamentoso, siendo indetectable en riñones normales. La función de dicha proteína no está todavía esclarecida, pero parece claramente implicada en los procesos de daño-reparación tubulares. Esta proteína se puede detectar en tejido y en orina incluso antes de que aparezca una elevación en las cifras de creatinina, además su detección se correlaciona con la intensidad del daño renal producido (Han et al, 2002; Ichimura et al, 2004; Vaidya et al, 2006; Van Timmeren et al, 2006; Ichimura et al, 2008).

En nuestra serie probamos los anticuerpos de ratón para la detección de Kim-1 porcina con buenos resultados.

De acuerdo con las publicaciones mencionadas anteriormente encontramos una tendencia no significativa a presentar un aumento en los niveles titulares de Kim-1 en los riñones extraídos por

laparoscopia con respecto a los obtenidos por vía abierta tanto en la muestra basal como en la tomada tras la isquemia y la perfusión en los riñones extraídos por laparoscopia para igualarse a la semana de evolución. La detección en orina no fue posible debido a la dificultad para mantener un sondaje permeable en estos animales.

6.4: Evolución funcional del injerto

La disfunción inicial del injerto después de la nefrectomía de un donante vivo se presenta entre un 5 y un 10% de los casos según las diferentes series realizadas en humanos. Esta disfunción inicial está asociada con un incremento del riesgo de rechazo y puede disminuir la supervivencia del injerto (Abreu et al, 2004). Como se ha comentado anteriormente, en numerosas series realizadas en pacientes trasplantados se ha documentado que los receptores de un riñón extraído por laparoscopia presentan mayores niveles de creatinina sérica, una normalización de la misma más lenta, y una mayor necesidad de sesiones de diálisis durante la primera semana postrasplante (Nogueira et al, 1999; Ratner et al, 2000; Troppmann et al, 2003; Jacobs et al, 2004). Entre las causas relacionadas con este hecho se ha apuntado al tiempo de isquemia caliente secundario al mayor tiempo transcurrido entre el clampaje y la extracción del órgano, y en las series más recientes principalmente, al posible efecto de la isquemia que produce como consecuencia de la hiperpresión durante el neumoperitoneo, ya que en diversos estudios se ha demostrado que durante el neumoperitoneo al aumentar la presión intrabdominal, se produce cierto grado de disfunción transitoria (oliguria) secundaria a la compresión del parénquima y de los vasos, lo cual hace que la normalización de las cifras de creatinina sérica durante la primera semana sea más lenta cuando la extracción

es laparoscópica (Kirsch et al, 1994; Chang et al, 1994; McDougall et al, 1996; Burgos et al, 2003; Chacalonmbe et al, 2004; Goel cols, 2004; Linares et al, 2008). Sin embargo no se ha demostrado que esta disfunción inicial pueda tener repercusión a largo plazo tanto en diseños experimentales animales (Gill et al, 1994; Hazebroek et al, 2002; Hazebroek et al, 2003; Lind et al, 2006), como en humanos (Jacobs et al, 2004; Simforoosh et al, 2005). Incluso existe alguna serie en la que encuentran una función del injerto significativamente mejor a largo plazo cuando la extracción es laparoscópica, pese a que la función inicial sea más lenta que en la vía abierta (Goel et al, 2004). Se había postulado que el neumoperitoneo pudiera tener un papel de acondicionamiento y favorecer la tolerancia al daño renal producido por la isquemia caliente, ya que en algún estudio experimental con ratones se había visto que periodos cortos de isquemia pudiera mejorar la tolerancia a dicho daño (Park et al, 2003), pero en diferentes estudios realizados en modelo porcino y en humanos no se ha demostrado este hecho, ya que no se han encontrado diferencias significativas ni a corto ni a largo plazo en cuanto a la evolución de los injertos (Laven et al, 2004; Soulsby et al, 2005; Lind et al, 2006), si bien, la tolerancia a la isquemia caliente es mejor en un riñón único que en pacientes birrenos (Baldwin et al, 2004; Lyon et al, 2007).

También se ha comprobado que ni la longitud de la arteria, un tiempo de isquemia caliente menor de 10 minutos, una duración

prolongada del neumoperitoneo, o usar el riñón derecho influyan en el funcionamiento del injerto al año (Abreu et al, 2004).

En nuestra serie, en concordancia con los estudios comentados anteriormente, hemos comprobado que la recuperación funcional del injerto cuando la extracción es laparoscópica a través de la cuantificación de los niveles de creatinina y urea séricas fue más lenta en el grupo laparoscópico que en el de extracción vía abierta sin que las diferencias llegaran a ser estadísticamente significativas.

6.5: Influencia del género

Cada vez existe mayor evidencia de que las hormonas sexuales influyen en la tolerancia al daño renal; así mientras que la presencia de estrógenos confiere cierta protección frente al daño producido por la isquemia renal y presenta mejor supervivencia del injerto y del paciente (Abreu et al, 2004; Alonso et al, 2004; Kang et al, 2004; Kher et al, 2005; Metcalfe and Meldrum, 2006; McGuire et al, 2007), parece que los andrógenos pueden desarrollar algún papel en la producción de dicho daño (Park et al, 2004; Montgomery et al, 2007).

Los mecanismos por los que las hormonas sexuales intervienen en el daño renal aún no están claramente establecidos, pero sin duda se trata de un fenómeno multifactorial.

Las hormonas sexuales están en relación con la activación y la regulación de la cadena de la inflamación y la apoptosis, aunque las vías por las que actúan aún no están claras (Park et al, 2004; Verzola et al, 2004; Wang et al, 2005). El estradiol es un antioxidante y aumenta la actividad renal de la NADPH oxidasa, lo cual confiere cierta protección frente al daño renal (Ji et al, 2007; Yanes et al, 2008); este hecho explicaría que las mujeres tras la menopausia sean más susceptibles a las patologías renales, igualándose su incidencia con la de los varones (Neugarten et al, 1999). También, existen diversos estudios que apuntan a que la hipoxia producida por la isquemia puede aumentar la expresión de endotelina (ET-1),

especialmente en los capilares peritubulares. La endotelina es un potente vasoconstrictor, lo cual conlleva un descenso del flujo sanguíneo renal de entre un 40-50% tras la reperusión y un aumento de las resistencias vasculares que pueden conllevar una necrosis tubular aguda (Ohta et al, 1991; Brady et al, 1996; Müller et al, 2002; Kher et al, 2005). Este hecho queda patente en ratones machos, mientras que en hembras o machos orquiectomizados los niveles de ET-1 son claramente inferiores, así mismo, hembras ovariectomizadas presentan los mismos niveles que los machos normales (Fortepiani et al, 2003; Yanes et al, 2008).

En nuestro estudio, en concordancia con lo anteriormente expuesto, encontramos que los machos, en especial si la extracción ha sido laparoscópica, tienen una mayor tendencia a presentar daño en los túbulos contorneados proximales que las hembras, así mismo encontramos la presencia de un mayor infiltrado intersticial que es significativo a la semana de evolución..

Este hecho también estaría en relación con el aumento de los niveles tisulares de MDA en machos, en especial si la extracción ha sido laparoscópica, con respecto a las hembras, siendo estas diferencias significativas tras la repercusión del injerto.

En cuanto a los niveles de Kim-1 tisulares, dado que hasta ahora se ha relacionado esta proteína con la presencia de una agresión renal, sorprende encontrar unos niveles mayores, aunque no estadísticamente significativos, en hembras con respecto a los

machos, ya que éstas son las que han evidenciado un menor daño tisular así como la presencia de un menor infiltrado intersticial. Cuando comparamos los cuatro subgrupos por separado las hembras laparoscópicas presentan unos niveles de Kim-1 significativamente superiores a los de los machos con extracción vía abierta, lo cual nos induce a pensar que esta molécula podría aumentar su expresión en relación con procesos de reparación tisular, al encontrar niveles superiores en el grupo que presenta menor daño anatomopatológico, menor infiltrado intersticial, menores niveles de MDA tisular, y una mejor recuperación funcional.

Otro aspecto importante es la recuperación funcional del injerto. Partiendo de una función renal equivalente, con niveles de creatinina y urea séricas completamente superponibles en el preoperatorio y postoperatorio inmediato entre machos y hembras, la recuperación funcional del riñón tras ser implantado y sometido al fenómeno de isquemia-reperfusión, es claramente más lenta en machos que en hembras con independencia de la vía de extracción del injerto.

Existe una tendencia no significativa en los niveles de creatinina sérica de los machos a ser mayores que los de las hembras a partir del primer día del implante, estas diferencias llegan a ser estadísticamente significativas al tercer día. Así mismo, las cifras de urea sérica a partir del primer día del implante se mantienen significativamente más elevadas en los machos con respecto a las hembras.

Cuando analizamos la recuperación funcional de los 4 subgrupos por separado, no encontramos ninguna diferencia entre las hembras en función de la vía de extracción, pero al comparar los machos con un riñón extraído por laparoscopia con las hembras, encontramos una importante diferencia en los niveles de creatinina sérica en especial al tercer día, en la que esta diferencia es significativa. De estos datos podemos extraer que aunque el neumoperitoneo tenga influencia en la recuperación de la función renal, la hembras presentan cierta protección ante este fenómeno.

7. Conclusiones

1. Globalmente podemos concluir que el neumoperitoneo no tuvo un efecto nocivo sobre el injerto renal en nuestro modelo experimental de autotrasplante porcino.
2. A nivel histológico, no encontramos diferencias en la intensidad del infiltrado intersticial ni en el daño de los túbulos contorneados proximales en función de la vía de obtención del injerto en ningún momento del experimento.
3. Los niveles séricos y tisulares de MDA experimentaron un comportamiento similar en todos los momentos del experimento, independientemente de haberse realizado o no neumoperitoneo.
4. El neumoperitoneo comportó una tendencia inicial no significativa al aumento de los niveles de Kim-1.
5. La recuperación de la función renal fue similar en ambos grupos aunque se observó una tendencia a ser más lenta en los experimentos realizados con neumoperitoneo.

6. Al analizar la influencia del genero sobre el impacto del neumoperitoneo en el injerto renal, encontramos que:

- a. Existió una tendencia al mayor infiltrado intersticial en machos, que llego a ser significativa a la semana del autotrasplante.
- b. Existió una tendencia al incremento en la concentración tisular de MDA en machos, que fue significativa después de la reperfusión.
- c. Existe una tendencia no significativa a que las hembras con extracción laparoscópica presenten unos niveles mayores de Kim-1 que los machos con extracción vía abierta en las primeras muestras, siendo estas diferencias significativas en la muestra basal.
- d. La recuperación funcional del injeto fue más lenta en los machos, llegando a existir un incremento estadísticamente significativo de creatinina sérica respecto a las hembras, al tercer día del autotrasplante.
- e. La evolución de los niveles de creatinina fueron independientes del neumoperitoneo en las hembras. Sin

embargo, en los machos sometidos a extracción laparoscópica se observó una recuperación más lenta.

8. Referencias bibliográficas

- Abrahams HM, Freise CE, Kang SM, Stohler ML, Meing MV. Technique, indications and outcomes of pure laparoscopic right donor nephrectomy. *The Journal of Urology*; 171: 1793–1796, 2004.
- Abreu SC, Goldfarb DA, Derweesh I, Thornton J, Urbain J, Mascha E, Steinberg A, Kaouk J, Flechner S, Modlin C. Factors related to delayed graft function after laparoscopic live donor nephrectomy. *The Journal of Urology*; 171: 52 - 57, 2004.
- Aguilera A, Murillo S, Benito J, Cisneros J, De la Peña J. Autotrasplante renal laparoscópico experimental. *Actas Urológicas Españolas*; 28: 27-31, 2004.
- Akbulut G, Serteser M, Polat C, Köken T, Aktepe F, Yilmaz S, Gokce C, Gokce Ö. Changes in tissue oxidative stress markers in an experimental model of laparoscopic donor nephrectomy. *Transplantation*; 74: 1768-1772, 2002.
- Alcaraz A, Rosales A, Guirado LI, Díaz JM, Musquera M, Villavicencio H. Early Experience of a Living Donor Kidney Transplant Program. *European Urology*; 50: 542–548, 2006.
- Alishahi S, Francis N, Crofts S, Duncan L, Bickel A, Cuschieri A. Central And Peripheral Adverse Hemodynamic Changes During Laparoscopic Surgery And Their Reversal With A Novel

Intermittent Sequential Pneumatic Compression Device. *Annals of Surgery*; 233: 176–182, 2001.

- Alonso A, Oliver J. Chronic Allograft Nephropathy: Causes of Death and Mortality Risk Factors—A Review of the Last Decade in Spain. *Transplantation Proceedings*; 36: 765–767, 2004.
- Aulitzky WK, Schlegel PN, Wu DF, Cheng CY, Chen CL, Li PS, Goldstein M, Reidenberg M, and Bardin CW. Measurement of urinary clusterin as an index of nephrotoxicity. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*; 199: 93-96, 1992.
- Azar SA, Nakhjavani MR, Tarzamni MK, Faragi A, Bahloli A, Badroghli N. Is Living Kidney Donation Really Safe?. *Transplantation Proceedings*; 39: 822–823, 2007.
- Baldwin DD, Maynes LJ, Berger KA, Desai PJ, Zuppan CW, Zimmerman GJ, Winkielman AM, Sterling TH, Tsai CK, Ruckle HC. Laparoscopic warm renal ischemia in the solitary porcine kidney model. *Urology*; 64: 592-597, 2004.
- Behrends M, Walz MK, Kribben A, Neumann T, Helmchen U, Philipp T, Schulz R, Heusch G. No protection of the porcine kidney by ischaemic preconditioning. *Experimental Physiology*; 85: 819-827, 2000.
- Behrends FJ, den Hoed PT, Bonjer HJ, kazemier G, Van Riemsdijk I, Weimar W, Ijzermans JNM. Technical

- considerations and pitfalls in laparoscopic live donor nephrectomy. *Surgical Endoscopy*; 16: 893-898, 2002.
- Berney T, Malaise J, Mourad M, Morel P, Squifflet JP. Laparoscopic and open live donor nephrectomy: a cost/benefit study. *Transplant International*; 13: 35-40, 2000.
 - Bestard JE, Raventós CX, Celma A, Rosal M, Esteve M, Morote J. El modelo porcino en la cirugía experimental del trasplante renal. *Actas Urológicas Españolas*; 32:91-101, 2008.
 - Bettschart V, Boubaker A, Martinet O, Golshayan D, Wauters JP, Mosimann F. Laparoscopic right nephrectomy for live kidney donation: functional results. *Transplantation International*; 16: 419-24, 2003.
 - Bilde T, Dahlager JJ, Asnaes S. The influence of warm ischaemia on renal function and pathology. *Scandinavian Journal of Urology and Nephrology*; 11: 165-172, 1977.
 - Bock HA, Bachofen M, Landmann J, Thiel G. Glomerular hyperfiltration after unilateral nephrectomy in living kidney donors. *Transplant International*; 5: S156-S159, 1992.
 - Boorjian S, Munver R, Sosa RE, Del Pizzo JJ. Right laparoscopic live donor nephrectomy: a single institution experience. *Transplantation*; 77: 437-440, 2004.
 - Brady HR, Brenner BM, Lieberthal W. Acute renal failure. Pathology and pathophysiology of ischemic acute tubule

necrosis. The Kidney 1996; 5th ed edited by Brenner BM Philadelphia, WB Saunders pp 1207–1222.

- Branten AJ, Mulder TP, Peters WH, Assmann KJ, Wetzels JF. Urinary excretion of glutathione S transferases alpha and pi in patients with proteinuria: reflection of the site of tubular injury. Nephron Journals; 85: 120-126, 2000.
- Brenner BM. Nephron adaptation to renal injury. The Journal of Urology; 148: 747-751, 1992.
- Brown SL, Biehl TR, Rawlins MC, Hefty TR. Laparoscopic Live Donor Nephrectomy: A Comparison With The Conventional Open Approach. The Journal Of Urology; 165: 766–769, 2001.
- Burgos FJ, Alcaraz A, Castellón I, González M, Lledó E, Matesanz R, Marcén R, Montañés P, Pascual J. Presente y Futuro del Trasplante Renal. Actas Urológicas Españolas; 26: 731-762, 2002.
- Burgos FJ, Pascual J, Briones G, Cuevas B, Villafruela J, Correa C, Marcen R, Gómez V. Influence of Laparoscopic Live Donor Nephrectomy In Ischemia-Reperfusion Síndrome and renal Function Alter Kidney Transplantation: An Experimental Study. Transplantation Proceedings; 35: 1664-1665, 2003.
- Busson M, Benoit G. Is matching for sex and age beneficial to kidney graf survival? Société Française de Transplantation and Association France Transplant. Clinical Transplantation; 11: 15-18, 1997.

- Carrera M, González C, Condom E, Bernat R. Biopsia del donante en el trasplante renal. *Revista Española de Patología*; 35: 295-300, 2002.
- Cevrioglu AS, Yilmaz S, Koken T, Tokyol C, Yilmazer M, Fenkci IV. Comparison of the effects of low intra-abdominal pressure and ischaemic preconditioning on the generation of oxidative stress markers and inflammatory cytokines during laparoscopy in rats. *Human Reproduction*; 19: 2144–2151, 2004.
- Challacombe B, Mamode N. Laparoscopic live donor nephrectomy. *Nephrology Dialysis Transplantation*; 19: 2961–2964, 2004.
- Chang DT, Kirsch AJ, Sawezuk IS. Oliguria during laparoscopic surgery. *The Journal of Endourology*; 8: 349-352, 1994.
- Chertow GM, Lazarus JM, Paganini EP, Allgren RL, Lafayette R A, Sayegh MH. Predictors of mortality and the provision of dialysis in patients with acute tubular necrosis. The Auriculin Anaritide Acute Renal Failure Study Group. *Journal of American Society of Nephrology*; 9: 692-698, 1998.
- Chin EH, Hazzan D, Herron DM, Gaetano JN, Ames SA, Bromberg JS, Edye M. Laparoscopic donor nephrectomy *Surgical Endoscopy*; 21: 521–526, 2007.
- Clayman RV, Kavoussi LR, Soper NJ. Laparoscopic nephrectomy: Initial case report. *The Journal of Urology*; 146: 278, 1991.

- Cisek LJ, Gobet RM, Petters CA. Pneumoperitoneum produces reversible renal dysfunction in animals with normal and chronically reduced renal function. *Journal of Endourology*; 12: 95-100, 1998.
- Das S. Laparoscopia urológica avanzada. *Clínicas Urológicas de Norteamérica*; 1: 5-14, 2001.
- Desai MR, Ganpule AP, Gupta R, Thimmegowda M. Outcome of renal transplantation with multiple versus single renal arteries after laparoscopic live donor nephrectomy: a comparative study. *Urology*; 69: 824-827, 2007.
- Devarajan P. Update on Mechanisms of Ischemic Acute Kidney Injury. *Journal of the American Society of Nephrology*; 17: 1503-1520, 2006.
- Dexter SP, Vucevic M, Gibson J, McMahon MJ. Hemodynamic consequences of high- and low-pressure capnoperitoneum during laparoscopic cholecystectomy. *Surgical Endoscopy*; 9: 376-81, 1999.
- Dunn MD, McDougall EM. Renal physiology. Laparoscopic considerations. *Urologic Clinics of North America*; 27: 609-614, 2000.
- Elftheriadis E, Kotzampassi K, Botsios D, Tzartinoglou E, Farmakis H, Dadoukis J. Splanic ischaemia during laparoscopic cholecystectomy. *Surgical Endoscopy*; 10: 324-326, 1996.

- El-Galley R, Hood N, Young CJ, Deierhoi M, Urban DA. Donor Nephrectomy: A Comparison Of Techniques And Results Of Open, Hand Assisted And Full Laparoscopic Nephrectomy. *The Journal Of Urology*; 171: 40–43, 2004.
- Esquena S, Planas J, Abascal JM, Trilla E, Cecchini L, Raventós CX, Morote J. Correlation Between the Biopsies in Marginal Donor Kidneys for Transplantation: Is It Necessary to Biopsy Both Kidneys? *Transplantation Proceedings*; 38: 1270–1273, 2006.
- Fabrizio MD, Ratner LE, Montgomery RA, Kavoussi LR. Laparoscopic live donor nephrectomy. *Urologic Clinics of North America*; 26:247-256, 1999.
- Fehrman-Ekholm I. Living Donor Kidney Transplantation. *Transplantation Proceedings*; 38: 2637-2641, 2006.
- First MR. Renal function as a predictor of long-term graft survival in renal transplant patients. *Nephrology Dialysis Transplantation*; 18: i3–i6, 2003.
- Fitzsimmons W, Thompson D, Hariharan S, Van Veldhuisen P. Serum creatinine as a surrogate endpoint for graft loss in kidney transplantation: validation efforts from multicentre trials. *American Journal of Transplantation*; 3: 1560-1565, 2003.

- Flowers JL, Jacobs S, Cho E, Morton A, Rosenberger WF, Evans D. Comparison of open and laparoscopic live donor nephrectomy. *Annals of Surgery* ; 226: 483, 1997.
- Fortepiani LA, Yanes L, Zhang H, Racusen LC, Reckelhoff JF. Role of androgens in mediating renal injury in aging SHR. *Hypertension*; 42: 952–955, 2003.
- Fuller TF, Deger S, Chler AB, Roigas J, Nberger BS, Schnorr D, Ilmann MT, Loening SA, Giessing M. Ureteral Complications In The Renal Transplant Recipient After Laparoscopic Living Donor Nephrectomy. *European Urology*; 50: 535–541, 2006.
- Gerges FJ, Kanazi GE, Jabbour-khoury SI. Anesthesia for laparoscopy: a review. *Journal of Clinical Anesthesia*; 18: 67–78, 2006.
- Gesualdo L, Di Palma AM, Morrone LF, Strippoli GF, Schena FP. The Italian experience of the national registry of renal biopsies. *Kidney International*; 66: 890-894, 2004.
- Gill IS, Carbone JM, Clayman RV, Fadden PA, Stone AM, Lucas BA, McRoberts JW. Laparoscopic Live-Donor Nephrectomy. *Journal of Endourology*; 8: 143-148, 1994.
- Goel MC, Modlin CS, Mottoo AM, Derweesh IH, Flechner SM, Streem S, Gill I, Goldfarb DA, Novick AC. Fate Of Donor Kidney: Laparoscopic Versus Open Technique. *The Journal Of Urology*; 172: 2326–2330, 2004.

- Gulec B, Coskun K, Oner K, Aydin A, Yigitler C, Kozak O, Uzar A, Arslan I. Effects of Perfusion Solutions on Kidney Ischemia-Reperfusion Injury in Pigs. *Transplantation Proceedings*; 38: 371-374, 2006.
- Gürkan A, Kaçar S, Basak K, Varilsüha C, Karaca C. Do multiple renal arteries restrict laparoscopic donor nephrectomy?. *Transplantation Proceedings*; 36: 105-107, 2004.
- Gutiérrez-Dalmau A, Taurina A, Faura A. Valoración De Los Candidatos A Trasplante Renal De Donante Vivo. *Archivos Españoles Urologicos*; 58: 503-510, 2005.
- Habb F, Julia P, Nochy D. Improvement of postischaemic renal function by limitation of inicial reperfusion pressure. *The Journal of Urology*; 155: 1089-1093, 1996.
- Han WK, Bailly V, Abichandani R, Thadhani R, Bonventre JV. Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1): a novel biomarker for human renal proximal tubule injury. *Kidney International*; 62: 237-244, 2002.
- Haugen E, Nath KA. The involvement of oxidative stress in the progresión of renal injury. *Blood Purification*; 17: 58-65, 1999.
- Hazebroek EJ, Capell RN, Gommers D, Van Gelder T, Weimar W, Steyenberg EV, Bonjer HJ, Ijzermans JN. Antidiuretic hormone release during laparoscopic neprhectomy. *Archives of Surgery*; 137: 600-604, 2002.

- Hazebroek EJ, de Bruin RWF, Bouvy ND, van Duikeren S, Bonthuis F, Marquet RL, Bajeza IM, Hayes DP, IJzermans JNM, Bonjer HJ. Short-term impact of carbon dioxide, helium, and gasless laparoscopic donor nephrectomy on renal function and histomorphology in donor and recipient. *Surgical Endoscopy* 16: 245–251, 2002.
- Hazebroek EJ, Haitsma JJ, Lachmann B. Impact of carbon dioxide and helium insufflation on cardiorespiratory function during prolonged pneumoperitoneum in an experimental rat model. *Surgical Endoscopy*; 16: 1073-1078, 2002.
- Hazebroek EJ, de Bruin RWF, Bouvy ND, Marquet RL, Bonthuis F, Bajeza IM, Hayes DP, Ijzermans JNM, Bonjer HJ. Long-term Impact of Pneumoperitoneum Used for Lparoscopic Donor Nephrectomy on renal Funtion and Histomorphology in Donor and Recipient Rats. *Annals of Surgery*; 237: 351-357, 2003.
- Holzheimer RG. Laparoscopic procedures as a risk factor of deep venous thrombosis, superficial sacending thrombophlebitis and pulmonary embolism. Case report and review of the literature. *European journal of medical research*; 29: 417-422, 2004.
- Hong ME, Hong JC, Stepkowski S, Kahan BD. Correlation between cyclosporine-induced nephrotoxicity in reduced nephron mass and expression of kidney injury molecule-1 and

- aquaporin-2 gene. *Transplantation Proceedings*; 37: 4254-4258, 2005.
- Hsu THS, Su LM, Ratner LLE, Trock BJ, Kavoussi LR. Impact Of Renal Artery Multiplicity On Outcomes Of Renal Donors And Recipients In Laparoscopic Donor Nephrectomy. *Urology*; 61: 323-327, 2003.
 - Ichimura T, Bonventre J, Bailly V, Wei H, Hession C, Cate R, Sanicola M. Kidney injury molecule-1 (KIM-1), a putative epithelial cell adhesion molecule containing a novel immunoglobulin domain, is upregulated in renal cells after injury. *Journal of Biological Chemistry*; 273: 4135-4142, 1998.
 - Ichimura T, Hung CC, Yang SA, Stevens JL, Bonventre JV. Kidney injury molecule-1: a tissue and urinary biomarker for nephrotoxicant-induced renal injury. *American Journal of Physiology Renal Physiology*; 286: F552-F563, 2004.
 - Ichimura T, Asseldonk EJP, Humphreys BD, Gunaratnam L, Duffield JS, Bonventre JV. Kidney injury molecule-1 is a phosphatidylserine receptor that confers a phagocytic phenotype on epithelial cells. *Journal of Clinical Investigation*; 118: 1657-1668, 2008.
 - Iseki K, Ikemiya Y, Fukiyama K. Risk factors of endstage renal disease and serum creatinine in a communitybased mass screening. *Kidney International*; 51: 850-854, 1997.

- Ishizaki Y, Bandai Y, Shimomura K, Abe H, Ohtomo Y, Idezuki Y. Safe intra-abdominal pressure of CO₂ pneumoperitoneum during laparoscopic surgery. *Surgery*; 114: 549–554, 1993.
- Jacobs SC, Cho E, Dunkin BJ, Flowers JL, Schweitzer E, Cangro C, Fink J, Farney A, Philosophe B, Jarrel B, Bartlett ST. Laparoscopic live donor nephrectomy: The University of Maryland 3-year experience. *The Journal of Urology*; 164: 1494-1499, 2000.
- Jacobs SC, Cho E, Foster C, Liao P, Bartlett ST. Laparoscopic donor nephrectomy: The University of Maryland 6-year experience. *The Journal of Urology*; 171: 47–51, 2004.
- Janetschek G, Rassweiler J. Cirugía laparoscópica en urología. Ed. Masson; 6: 55-64, 1998.
- Ji H, Zheng W, Menini S, Pesce C, Kim J, Wu X, Mulroney SE, Sandberg K. Female protection in progressive renal disease is associated with estradiol attenuation of superoxide production. *Gender Medicine*; 4: 56–71, 2007.
- Jiménez del Cerro LA, Franco A, Olivares J. Perfiles evolutivos de la proteinuria en el trasplante renal. Factores predictivos de su aparición. *Nefrología Volumen XXII N°4*, páginas 356-364, 2002.
- Johnston T, Reddy K, Mastrangelo M, Lucas B, Ranjan D. Multiple renal arteries do not pose an impediment to the routine

- use of laparoscopic donor nephrectomy. *Clinical Transplantation*; 15: 62–65, 2001.
- Joshi GP. Anesthesia For Laparoscopic Surgery. *Canadian Journal Of Anesthesia*; 49: R1–R5, 2002.
 - Kang DH, Yu ES, Yoon KI, Jonson R. The Impact of Gender on Progression of Renal Disease Potential Role of Estrogen-Mediated Vascular Endothelial Growth Factor Regulation and Vascular Protection. *American Journal of Pathology*; 164: 679-688, 2004.
 - Kay MD, Brook N, Kaushik M, Harper SJF, Bagul A, Nicholson ML. Comparison of right and left laparoscopic live donor nephrectomy. *British Journal of Urology International*; 98: 843-844, 2006.
 - Khauli RB, Hussein M, Madi R, Shaar A, Dagher FJ. Technical modifications of laparoscopic donor nephrectomy associated with improved graft quality and transplant outcome. *Transplantation Proceedings*; 35: 2551, 2003.
 - Kher A, Meldrum KK, Wang M, Tsai BM, Pitcher JM, Meldrum DR. Cellular and molecular mechanisms of sex differences in renal ischemia–reperfusion injury. *Cardiovascular Research*; 67: 594 – 603, 2005.
 - Kievit JK, Oomen AMA, Janssen MA, van Kreel BK, Heineman E, Kootstra G. Viability assessment of non-heart-beating donor

- kidneys by alpha glutathione S-transferase in the machine perfusate. *Transplantation Proceedings*; 29: 1381-1383, 1997.
- Kirsch AJ, Hensle TW, Chang DT, Kayton ML, Olsson CA, Sawczuk IS. Renal effects of CO2 insufflation: Oliguria and acute renal dysfunction in a rat pneumoperitoneum model. *Urology*; 43: 453-459, 1994.
 - Kok NF, Adang EM, Hansson BM, Dooper IM, Weimar W, Van der Wilt GJ, Ijzermans JN. Cost effectiveness of laparoscopic versus mini-incision open donor nephrectomy: a randomized study. *Transplantation*; 83: 1582-1587, 2007.
 - Kosieradzki M, Kuczynska J, Piwowarska J, Wegrowicz-Rebandel I, Kwiatkowski A, Lisik W, Michalak G, Danielewicz R, Paczek L, Rowinski WR. Prognostic Significance Of Free Radicals: Mediated Injury Occurring In The Kidney Donor. *Transplantation*; 75: 1221-1227, 2003.
 - Kwon OJ, Kwak JY, Kang CM. The Impact of Gender and Age Matching for Long-Term Graft Survival in Living Donor Renal Transplantation. *Transplantation Proceedings*; 37: 726-728, 2005.
 - Laven BA, Orvieto MA, Chuang MS, Ritch CR, Murray P, Harland RC, Inman SR, Brendler CB, Shalhav AL. Renal Tolerance To Prolonged Warm Ischemia Time In A Laparoscopic Versus Open Surgery Porcine Model. *The Journal Of Urology*; 172: 2471-2474, 2004.

- Lee BR, Cadeddu JA, Moldar-Nadasdy G, Enriquez D, Nadasdy T, Kavoussi LR, Ratner LE. Chronic effect of pneumoperitoneum on renal histology. *The Journal of Endourology*; 13: 279-282, 1999.
- Leventhal JR, Kocak B, Salvalaggio PR, Koffron AJ, Baker TB, Kaufman DB, Fryer JP, Abecassis MM, Stuart FP. Laparoscopic Donor Nephrectomy 1997 To 2003: Lessons Learned With 500 Cases At A Single Institution. *Surgery*; 136: 881-890, 2004.
- Li C, Jackson RM. Reactive species mechanisms of cellular hypoxia-reoxygenation injury. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*; 51: C227-C241, 2002.
- Linares AI, Burgos FJ, Villafruela JJ, Zamora J, Pascual J, Marcén R, Cuevas B, Correa C. Análisis comparativo de la función del injerto renal de donante vivo tras nefrectomía abierta y laparoscópica: modelo experimental. *Actas Urológicas Españolas*; 32:140-151, 2008.
- Lind MY, Ijzermans JN, Bonjer HJ. Open vs laparoscopic donor nephrectomy in renal transplantation. *British Journal of Urology International*; 89: 162-168, 2002.
- Lind MY, Hazebroek EJ, Kirkels WJ, Hop WCJ, Weimar W, Ijzermans JNM. Laparoscopic Versus Open Donor Nephrectomy: Ureteral Complications In Recipients. *Urology*; 63: 36-40, 2004.

- Lind MY, Hazebroek EJ, Bajema IM, Bonthuis F, Hop WCJ, de Bruin RWF, Ijzermans JNM. Effect of prolonged warm ischemia and pneumoperitoneum on renal function in a rat syngeneic kidney transplantation model. *Surgical Endoscopy*; 20: 1113–1118, 2006.
- London ET, Ho HS, Neuhaus AM, Wolfe BM, Rudich SM, Perez RV. Effect of intravascular volume expansion on renal function during prolonged CO2 pneumoperitoneum. *Annals of Surgery*; 231: 195, 2000.
- Lotan Y, Gettman MT, Roehrborn CG, Pearle MS, Cadeddn JA. Cost comparison for laparoscopic nephrectomy and open nephrectomy: analysis of individual parameters. *Urology*; 59: 821-825, 2002.
- Lyon MB, Orvieto MA, Zorn KC, Tolhurst SR, Rapp DE, Mikhail AA, Brendler CB, Shalhav AL. Effect of Renal Ischemia in Laparoscopic Acute Versus Chronic Solitary Kidney Model. *Urology*; 69: 402–406, 2007.
- Maartense S, Idu M, Bemelman FJ, Balm R, Surachno S, Bemelman WA. Hand-assisted laparoscopic live donor nephrectomy. *British Journal of Surgery*; 91: 344–348, 2004.
- Mandal AK, Cohen C, Montgomery RA, Kavoussi LR, Ratner LLE. Should The Indications For Laparoscopic Live Donor Nephrectomy Of The Right Kidney Be The Same As For The Open Procedure? Anomalous Left Renal Vasculature Is Not A

- Contraindication To Laparoscopic Left Donor Nephrectomy. Transplantation; 71: 660–664, 2001.
- Martín P, Errasti P. Trasplante renal. Anales del sistema sanitario de Navarra; 29: 79-92, 2006.
 - Matas AJ, Bartlett ST, Leichtman AB, Delmonico FL. Morbidity And Mortality After Living Kidney Donation, 1999–2001: Survey Of United States Transplant Centers. American Journal Of Transplantation; 3: 830–834, 2003.
 - Matasa AJ, Bartlett ST, Leichtman AB, Delmonico FL. Morbidity and Mortality After Living Kidney Donation, 1999–2001: Survey of United States Transplant Center. American Journal of Transplantation; 3: 830–834, 2003.
 - McDougall EM, Monk TG, Wolf JS Jr, Hicks M, Clayman RV, Gardner S, Humphry PA, Sharp P, Martin K. The effect of prolonged pneumoperitoneum on renal function in an animal model. Journal of American College Surgeons; 182: 317-328, 1996.
 - McGuire BB, Watson RWG, Pérez-Barriocanal F, Fitzpatrick JM, Docherty NG. Gender Differences in the Renin-Angiotensin and Nitric Oxide Systems: Relevance in the Normal and Diseased Kidney. Kidney Blood Pressure Research; 30: 67–80, 2007.
 - Meldrum KK, Meldrum DR, Hile KL, Yerkes EB, Ayala A, Cain MP, Rink RC, Casale AJ, Kaefer MA. P38 MAPK mediates renal tubular cell TNF-alpha production and TNF-alpha-dependent

- apoptosis during simulated ischemia. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*; 281: C563-C570, 2001.
- Metcalfe PD, Meldrum KK. Sex Differences and the Role of Sex Steroids in Renal Injury. *The Journal Of Urology*; 176: 15-21, 2006.
 - Mishra J, Ma Q, Prada A, Mitsnefes M, Zahedi K, Yang J, Barasch J, Devarajan P. Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel early urinary biomarker for ischemic renal injury. *Journal of American Society of Nephrology*; 14: 2534-2543, 2003.
 - Misseri R, Meldrum DR, Dinarello CA, Dagher P, Hile KL, Rink RC, Meldrum KK. TNF-alpha mediates obstructioninduced renal tubular cell apoptosis and proapoptotic signaling. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*; 288: F406-F411, 2005.
 - Montgomery C, Varberg A, Leivestad T, Dekker FW, Dag P, Os I. Living Donor Kidney Transplantation: The Effects of Donor Age and Gender on Short- and Long-Term Outcomes. *Transplantation*; 83: 600-606, 2007.
 - Morales JM, Andrés A, Pallardo L. Trasplante renal en pacientes de edad avanzada con un riñón de donante añoso (Parte I: Utilización racional de donantes renales de cadáver de edad avanzada). *Nefrología*; 18: 32-46, 1998.
 - Müller V, Losonczy G, Heemann U, Vannay A, Fekete A, Reusz G, Tulassay T, Szabó AJ. Sexual dimorphism in renal ischemia-

reperfusion injury in rats: Possible role of endothelin. *Kidney International*; 62: 1364–1371, 2002.

- Muramatsu Y, Tsujie M, Kohda Y, Pham B, Perantoni AO, Zhao H, Jo SK, Yuen PS, Craig L, Hu X, and Star RA. Early detection of cysteine rich protein 61 (CYR61, CCN1) in urine following renal ischemic reperfusion injury. *Kidney International*; 62: 1601-1610, 2002.
- Najarian JS, Chavers BM, McHugh LE, Matas AJ. 20 years or more of follow-up of living kidney donors. *Lancet*; 340: 807–810, 1992.
- Neugarten J, Gallo G, Silbiger S, Kasiske B. Glomerulosclerosis in aging humans is not influenced by gender. *American Journal of Kidney Diseases*; 34: 884–888, 1999.
- Neugarten J, Acharya A, Silbiger SR. Effect of gender on the progression of nondiabetic renal disease: a metaanalysis. *Journal of American Society of Nephrology*; 11: 319- 329, 2000.
- Nicholson ML, Windmill DC, Horsburgh T, Harris KPG. Influence of allograft size to recipient body-weight ratio on the long-term outcome of renal transplantation. *British Journal of Surgery*; (87): 314-319, 2000.
- Nogueira JM, Cangro CB, Fink JC, Schweitzer E, Wiland A, Klassen DK, Gardner J, Flowers J, Jacobs S, Cho E, Philosophie B, Bartlett ST, Weir MR. A comparaison of recipient renal

- outcomes with laparoscopic versus open live donor nephrectomy. *Transplantation*; 157: 722-728, 1999.
- Novick AC. Laparoscopic live donor nephrectomy. *Urology*; 53: 668, 1999.
 - Obialo CI, Crowell AK, Okonofua EC. Acute renal failure mortality in hospitalized African Americans: age and gender considerations. *Journal of The National Medical Association*; 94: 127-134, 2002.
 - Ohta K, Hirata Y, Shichiri M, Kanno K, Emori T, Tomita K, Marumo F. Urinary excretion of endothelin-1 in normal subjects and patients with renal disease. *Kidney International*; 39: 307–311, 1991.
 - O'Malley C, Cunningham AJ. Physiologic changes during laparoscopy. *Anesthesiology Clinics of North America*; 19: 1–19, 2001.
 - Oppenheimer F. Transplante de donante vivo. En: Arias M, Campistol JM, Morales JM. *Manual de transplante renal*. Grupo 2 comunicaciones médicas s.l. :257-274, 2005.
 - Parikh CR, Jani A, Melnikov VY, Faubel S, and Edelstein CL. Urinary interleukin-18 is a marker of human acute tubular necrosis. *American Journal of Kidney Diseases*; 43: 405-414, 2004.
 - Park KM, Byun JY, Kramers C, Kim JI, Huang PL, Bonventre JV. Inducible Nitric Oxide Synthase Is an Important Contributor to

Prolonged Protective Effects of Ischemic Preconditioning in the Mouse Kidney. The Journal of biological Chemistry; 278: 27256-27266, 2003.

- Park YH, Min SK, Lee HH, Jung WK, Lee JS, Lee JH, Lee YD. Comparison of survival probabilities for living-unrelated versus cadaveric renal transplant recipients. Transplantation Proceedings; 36: 2020-2022, 2004.
- Park KM, Kim JI, Ahn Y, Bonventre AJ, Bonventre JV. Testosterone is responsible for enhanced susceptibility of males to ischemic renal injury. Journal of Biological Chemistry; 279: 52282-52292, 2004.
- Philosophe B, Kuo PC, Schweitzer EJ, Farney AC, Lim JW, Johnson LB, Jacobs S, Flowers JL, Cho ES, Bartlett ST. Laparoscopic versus open donor nephrectomy: Comparing ureteral complications in the recipients and improving the laparoscopic technique. Transplantation; 68: 497-502, 1999.
- Power RE, Preston JM, Griffin A, Martin I, Wall DR, Nicol DL. Laparoscopic Vs Open Living Donor Nephrectomy: A Contemporary Series From One Centre. British Journal of Urology International; 98: 133 – 136, 2006.
- Ratner LE, Ciseck LJ, Moore RG, Cigarroa FG, Kaufman HS, Kavoussi LR. Laparoscopic live donor nephrectomy. Transplantation; 60: 1047, 1995.

- Ratner LLE, Kavoussi LR, Sroka M, Hiller J, Weber R, Schulam PG, Montgomery R. Laparoscopic assisted live donor nephrectomy— a comparison with the open approach. *Transplantation*; 63: 229-233, 1997.
- Ratner LLE, Bishoff JT, Montgomery RA. Laparoscopic live donor nephrectomy: long-term results. *The Journal of Urology*; 159: 182, 1998.
- Ratner LE, Montgomery RA, Maley WR, Cohen C, Burdick J, Chavin KD, Kittur DS, Colombani P, Klein A, Kraus ES, Kavoussi LR. Laparoscopic live donor nephrectomy : the recipient. *Transplantation*; 69: 2319-2323, 2000.
- Ratner LE, Montgomery RA, Kavoussi LR. Laparoscopic live donor nephrectomy. *Urological Clinics of North America*; 28: 709–719, 2001.
- Raventós Busquets CX, Cecchini Rosell L, Trilla Herrera E, Planas Morin J, Orsola de los Santos A, Morote Robles J. Prostatectomía radical laparoscópica: la curva de aprendizaje. *Actas Urologicas Españolas*; 31: 205-210, 2003.
- Riera L. Donantes de edad avanzada y trasplante renal doble. *Actas Urológicas Españolas*; 24: 279-286, 2000.
- Sansalone CV, Maione G, Aseni P, Rossetti O, Mangoni I, Soldano S, De Roberto A, Minetti ME, Perrino ML, Civati G. Early and late residual renal function and surgical complications in

living donors: a 15-year experience at a single institution. Transplantation Proceedings; 38: 994-995, 2006.

- Sasaki TM, Finelli F, Bugarin E, Fowlkes D, Trollinger J, Barhyte DY, Light JA. Is laparoscopic donor nephrectomy the new criterion standard?. Archives of Surgery; 135: 943-947, 2000.
- Saxena AB, Myers BD, Derby G, Blouch KL, Yan JS, Ho B, Tan JC. Adaptive hyperfiltration in the aging kidney after contralateral nephrectomy. American Journal of Physiology Renal Physiology; 291: 629-634, 2006.
- Schafer M, Sagesser H, Reichen J, Krahenbuhl L. Alterations in hemodynamics and hepatic and splanchnic circulation during laparoscopy in rats. Surgical Endoscopy; 15: 1197-1201, 2001.
- Schwartz N, Hosford M, Sandoval RM, Wagner MC, Atkinson SJ, Bamburg J, Molitoris BA. Ischemia activates actin depolymerizing factor: role in proximal tubule microvillar actin alterations. American Journal of Physiology; 276: F544-F551, 1999.
- Serrallach N, Franco E, Riera L. Trasplante renal doble. Butlletí Transplantament; Nº 18 Octubre, 2001.
- Siebels M, Theodorakis J, Schmeller N, et al. Risks and complications in 160 living kidney donors who underwent nephroureterectomy. Nephrology Dialysis Transplantation; 18: 2648-2654, 2003.

- Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology*; 82: 291-295, 1997.
- Silbiger SR, Neugarten J. The impact of gender on the progression of chronic renal disease. *American Journal of Kidney Diseases*; 25: 515-533, 1995.
- Simforoosh N, Basiri A, Tabibi A, Shakhssalim N, Hosseini Moghaddam Smm. Comparison Of Laparoscopic And Open Donor Nephrectomy: A Randomized Controlled Trial. *British Journal Of Urology International*; 95: 851 – 855, 2005.
- Simic-Ogrizovic S, Simic T, Reljic Z, Markovic S, Blagojevic R, Radivojevic D, Lezaic V, Djukanovic LI, Mimic-Oka J. Markers of oxidative stress after renal transplantation. *Transplantation International*; 11: S125-S129, 1998.
- Slater TF. Free-Radical mechanism in tissue injury. *Biochemical Journal*; 222: 1-15, 1984.
- Solez K, Axelsen RA, Benediktsson H, Burdick JF, Cohen AH, Colvin RB, Croker BP, Droz D, Dunnill MS, Halloran PF. International standardization of criteria for the histologic diagnosis of renal allograft rejection: The Banff working classification of kidney transplant pathology. *Kidney international*; 44: 411-422, 1993.
- Soulsby RE, Evans LJ, Rigg KM, Shehata M. Warm Ischemic Time During Laparoscopic Live Donor Nephrectomy: Effects on

- Graft Function. Transplantation Proceedings; 37: 620-622, 2005.
- Srivastava A, Gupta N, Kumar Anant, Kapoor Rakesh, Dubey Deepak. Transperitoneal laparoscopic live donor nephrectomy: Current status. Indian Journal of Urology; 23: 294-298, 2007.
 - Stifelman MD, Hull D, Sola RE, et al. Hand assisted laparoscopic donor nephrectomy: a comparison with the open approach. Journal of Urology; 166: 444-448, 2001.
 - Subirá Ríos D, Rodríguez Martínez D, Dulín E, García Bordas J, Álvarez Fernández E, del Cañizo López JF, Hernández Fernández C, Lledó García E. Evaluación del síndrome isquemia-reperfusión y papel de la preservación del injerto en la extracción renal laparoscópica versus abierta en un modelo experimental porcino de donante vivo. Actas Urológicas Españolas; 32: 119-127, 2008.
 - Subramonian K, DeSylva S, Bishai P, Thompson P, Muir G. Acquiring surgical skills: a comparative study of open versus laparoscopic surgery. European Urology; 45: 346-351, 2004.
 - Swindle MM, Smith AC. Information Resources on Swine in Biomedical Research 1999-2000. En: Smith CP, editor. AWIC Resource Series No.11. United States Department of Agriculture. Feb 2000.
 - Troppmann C, Wiesmann K, McVicar JP, Wolfe BM, Perez RV. Increased transplantation of kidneys with multiple renal arteries

- in the laparoscopic live donor nephrectomy era: surgical technique and surgical and nonsurgical donor and recipient outcomes. *Archives of Surgery*; 136: 897–907, 2001.
- Troppmann C, Ormond DB, Perez RV. Laparoscopic (vs open) live donor nephrectomy: a UNOS database analysis of early graft function and survival. *American Journal of Transplant*; 3: 1295-1301, 2003.
 - Tsuji Y, Ariyoshi A, Sakamoto K. An experimental model for unilateral ischaemic acute failure in dog. *International Urology and Nephrology*; 25: 83-88, 1993.
 - United States Renal Data System Annual Data Report: Atlas of End-Stage Kidney Disease in the United States. Bethesda: National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, 2001.
 - Vaidya VS, Ramirez V, Ichimura T, Bobadilla NA, Bonventre JV. Urinary kidney injury molecule-1 (Kim-1): a sensitive quantitative biomarker for early detection of kidney tubular injury. *American Journal Physiology-Renal Physiology*; 290: F517-F529, 2006.
 - Van Timmeren MM, Bakker SJL, Vaidya VS, Bailly V, Schuurs TA, Damman J, Stegeman CA, Bonventre JV, Van Goor H. Tubular kidney injury molecule-1 in protein-overload nephropathy. *American Journal Physiology-Renal Physiology*; 291: F456–F464, 2006.

- Verzola D, Gandolfo MT, Salvatore F, Villaggio B, Gianiorio F, Traverso P, Deferrari G, Garibotto G. Testosterone promotes apoptotic damage in human renal tubular cells. *Kidney International*; 65: 1252-1261, 2004.
- Wadström J. Laparoscopic Donor Nephrectomy Technique. *Transplantation proceedings*; 35: 939-940, 2003.
- Wang M, Tsai BM, Kher A, Baker LB, Wairiuko GM, Meldrum DR. Role of endogenous testosterone in myocardial proinflammatory and proapoptotic signaling after acute ischemia-reperfusion. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology*; 288: H221-H226, 2005.
- Weight SC, Furness PN, Nicholson ML. New model of renal warm ischaemia-reperfusion injury for comparative functional, morphological and physiological studies. *British Journal of Surgery*; 85: 1669-1673, 1998.
- Westhuyzen J, Endre ZH, Reece G, Reith DM, Saltissi D, Morgan TJ. Measurement of tubular enzymuria facilitates early detection of acute renal impairment in the intensive care unit. *Nephrology Dialysis Transplantation*; 18: 543-551, 2003.
- Wight J, Chilcott J, Holmes M, Brewer N. The clinical and cost-effectiveness of pulsatile machine perfusion versus cold storage of kidneys for transplantation retrieved from heart-beating and non-heart-beating donors. *Health Technology Assessment*; 7: 1-94, 2003.

- Wilson CH, Bhatti AA, Rix DA, Soomro NA. Comparison Of Laparoscopic And Open Donor Nephrectomy: UK Experience. British Journal of Urology International; 95: 131 – 135, 2005.
- Wolf JS, Merion RM, Leichtman AB, Campbell DA, Magee JC, Punch JD, Turcotte JG, KonnaK JW. Randomized controlled trial of hand-assisted laparoscopic versus open surgical live donor nephrectomy. Transplantation; 72: 284-290, 2001.
- Yanes LL, Sartori-Valinotti JC, Reckelhoff JF. Sex Steroids and Renal Disease. Hypertension; 51: 976- 981, 2008.
- Yilmaz S, Koken T, Tokyol C, Kahraman A, Akbulut G, Serteser M, Polat C, Gokce C, Gokce Ö. Can preconditioning reduce laparoscopy-induced tissue injury?. Surgical Endoscopy; 17: 819-824, 2003.
- Annual Report of the US Scientific Registry of Transplant Recipients and organ procurement and Transplantation Network-Transplant Data 1988-1996. Rockville, Maryland: United Network of Organ Sharing and Division of Transplantation, Bureau of Health Resources and services Administration, United States Department of Health and Human Services 1997.
- Datos de la Organización Nacional de Trasplantes. Página WEB de la O.N.T: www.msc.es/ont/esp/ont.htm.

9: Anexos

9.1: Índice de abreviaturas

- **ADH:** *Hormona antidiurética*
- **ATP:** *Adenosin trifosfato*
- **AMP:** *Adenosinmonofosfato*
- **Ci:** *criterios de fibrosis intersticial*
- **ET-1:** *Endotelina*
- **FDA:** *Food and drug Administration*
- **GST:** *Glutation transferasa*
- **IRCT:** *Insuficiencia renal crónica terminal*
- **Kg:** *Kilogramo*
- **KIM-1:** *Kidney Injure Molecule-1*
- **MDA:** *Malondialdehído*
- **Mg:** *miligramo*
- **MI:** *mililitro*
- **MM Hg:** *milímetros de mercurio*
- **MAPK:** *proteínas de membrana dependientes de la protein-Kinasa*
- **NADPH:** *Nicotiamida-Adenina Dinucleotido fosfato*
- **NGAL:** *neutrophil gelatinase associated lipocalin*
- **NTA:** *necrosis tubular aguda*
- **ONT:** *Organización Nacional de Trasplante*
- **PAS:** *Ácido periódico de Schiff*
- **RA:** *Rechazo agudo*
- **RLO:** *Radicales libres de oxígeno*
- **TBA:** *Ácido tiobarbiturico*
- **TBS-T:** *Tris Buffered Saline With Tween*

9.2: Índice de Figuras

- **Figura 1:** Colocación del paciente y los trócares para la realización de una nefrectomía laparoscópica en este caso derecha. 23
- **Figura 2:** Estudio hemodinámica de la microcirculación renal. 43
- **Figura 3:** Alteraciones que se producen en las células tubulares renales tras la isquemia y reperusión. 47
- **Figura 4:** Alteraciones en las células del túbulo renal tras la isquemia. 48
- **Figura 5:** Esquema del diseño experimental. 73
- **Figura 6:** Gráfico de la disposición de los trócares y trayecto de la laparotomía. 79
- **Figura 7:** Fórmula de cuantificación de tinción inmunohistoquímica 93

9.3: Índice de Imágenes

- **Imagen 1:** Tinción en hematoxilina-eosina en la que podemos apreciar la lesión glomerular. 41
- **Imagen 2:** Tinción con ácido periódico de Schiff en la que se aprecian lesiones tubulares con vacuolización celular. 41
- **Imagen 3:** Tinción en hematoxilina-eosina de vaso sanguíneo normal. 41
- **Imagen 4:** Tinción en hematoxilina-eosina de vaso sanguíneo con hiperplasia intimal. 41
- **Imagen 5:** Imagen del animal en la mesa de quirófano antes de ser intubado. 74
- **Imagen 6:** Colocación del animal y de los trocares para la nefrectomía laparoscópica. 78

- **Imagen 7:** Fotografía a 40 aumentos y tinción de PAS en la que se aprecia en un corte de túbulos contorneados proximales sin lesión y en la que se aprecia el ribete en cepillo tubular intacto; Score 0. 87
- **Imagen 8:** Fotografía a 40 aumentos y tinción de PAS en la que se aprecia un corte de túbulos contorneados proximales con adelgazamiento celular y pérdida del ribete en cepillo; Score 1. 87
- **Imagen 9:** Fotografía a 40 aumentos y tinción de PAS en la que se aprecia un corte de túbulos contorneados proximales con Vacuolización de las células del epitelio proximal con alguna célula necrótica aislada como la que se señala con la flecha.; Score 2. 88
- **Imagen 10:** Fotografía a 40 aumentos y tinción de PAS en la que se aprecia un corte de túbulos contorneados proximales con Vacuolización de las células del epitelio proximal y con células necróticas diseminadas; Score 3. 88
- **Imagen 11:** Fotografía a 40 aumentos y tinción de PAS en la que se aprecia un corte de túbulos contorneados proximales con Vacuolización de las células del epitelio proximal y con grupos de células necróticas; Score 4. 89
- **Imagen 12:** Fotografía a 40 aumentos y tinción de tricrómico de Masson en la que se aprecia en un corte de túbulos contorneados proximales con ausencia de infiltrado intersticial; Score 1. 90
- **Imagen 13:** Fotografía a 40 aumentos y tinción de tricrómico de Masson en la que se aprecia en un corte de túbulos contorneados proximales con un infiltrado intersticial de entre el 10-25%; Score 2. 90
- **Imagen 14:** Fotografía a 40 aumentos y tinción de tricrómico de Masson en la que se aprecia en un corte de túbulos

- contorneados proximales con un infiltrado intersticial de entre el 26-50%; Score 3. 91*
- **Imagen 15:** *Fotografía a 10 aumentos de un corte de túbulos contorneados proximales teñidos con hematoxilina de Harris sin anticuerpo primario; control negativo. 93*
 - **Imagen 16:** *Fotografía a 10 aumentos de un corte de túbulos contorneados proximales teñidos con hematoxilina de Harris en la que se aprecia una tinción sutil de los túbulos. 94*
 - **Imagen 17:** *Fotografía a 40 aumentos de un corte de túbulos contorneados proximales teñidos con hematoxilina de Harris en la que se aprecia una captación intensa de los túbulos al anticuerpo. 94*
 - **Imagen 18:** *Fotografía a 40 aumentos de un corte de túbulos contorneados proximales teñidos con hematoxilina de Harris en la que se aprecia una captación intensa de los túbulos al anticuerpo. 95*

9.4: Índice de Gráficos

- **Gráfico 1:** *Actividad de donación y trasplante en Cataluña. Datos 2004 y 2005 8*
- **Gráfico 2:** *Actividad de donación y trasplante en Cataluña. Periodos 2004 y 2005. 9*
- **Gráfico 3:** *Evolución de la edad media de los donantes válidos mayores de 15 años. Periodo 1993-2005. 10*
- **Gráfico 4:** *Supervivencia del injerto entre los donantes vivo y cadáver según datos de la Sociedad Europea de Nefrología y Trasplante renal. 12*
- **Gráfico 5:** *Número de nefrectomías por año. 20*
- **Gráfico 6:** *Porcentaje de complicaciones y curva de aprendizaje. 21*

- **Gráfico 7:** Alteraciones en la función renal y detección de niveles de Kim-1 tras diferentes tiempos de isquemia renal bilateral en ratas. 63
- **Gráfico 8:** Distribución del daño tubular en la muestra basal en función del género. 108
- **Gráfico 9:** Distribución del daño tubular en la muestra tomada tras la isquemia en función del género. 109
- **Gráfico 10:** Distribución del daño tubular en la muestra tomada tras la reperusión en función del género. 109
- **Gráfico 11:** Diferencias en el infiltrado intersticial en la muestra tomada tras una semana de evolución en función del género. 111
- **Gráfico 12:** Valoración del MDA tisular en función del género..... 113
- **Gráfico 13:** Evolución de los niveles de Kim-1 tisular en función del género. 115
- **Gráfico 14:** Evolución De los niveles de Kim-1 tisular en función de los 4 subgrupos. 116
- **Gráfico 15:** Comportamiento de la creatinina serica en función de la vía de abordaje. 118
- **Gráfico 16:** Comportamiento de la urea sérica en función de la vía de abordaje. 118
- **Gráfico 17:** Comportamiento de la creatinina sérica en función del género. 119
- **Gráfico 18:** Comportamiento de la urea sérica en función del género. 120
- **Gráfico 19:** Evolución de la creatinina sérica en función de los 4 subgrupos 121

9.5: Índice de Tablas

- **Tabla 1:** *Evolución de la actividad de donación en Cataluña. Período 1999-2006.* 8
- **Tabla 2:** *Ventajas del trasplante renal con donante vivo.*..... 13
- **Tabla 3:** *Consideraciones para la selección de donantes en visitas sucesivas.* 14
- **Tabla 4:** *Predictores del aumento del riesgo quirúrgico.*..... 15
- **Tabla 5:** *Ventajas de la nefrectomía laparoscópica de donante vivo.* 24
- **Tabla 6:** *Inconvenientes de la nefrectomía laparoscópica de donante vivo.* 25
- **Tabla 7:** *Efectos conocidos del neumoperitoneo.* 29
- **Tabla 8:** *Complicaciones no quirúrgicas del donante.* 34
- **Tabla 9:** *Factores de riesgo de supervivencia pretrasplante renal.* 38
- **Tabla 10:** *Métodos habituales en la valoración de la viabilidad del injerto renal.* 38
- **Tabla 11:** *Metodología histopatológica de selección del donante añoso según los criterios de Banf.* 42
- **Tabla 12:** *Factores que influyen en la supervivencia postrasplante.* 52
- **Tabla 13:** *Posibles marcadores de la valoración de la viabilidad del injerto renal.* 58
- **Tabla 14:** *Determinaciones Séricas.* 82
- **Tabla 15:** *Determinaciones titulares.* 83
- **Tabla 16:** *Score de la descripción del daño histológico.* 86
- **Tabla 17:** *Criterios de Banff para la cuantificación de infiltrado intersticial.* 89
- **Tabla 18:** *Experimentos realizados y supervivencia/semana.* 98
- **Tabla 19:** *Experimentos realizados.* 99

• Tabla 20: <i>Supervivencia en función de los grupos de estudio.</i>	100
• Tabla 21: <i>Supervivencia de los experimentos en relación con el cambio de granja y la vía de abordaje.</i>	101
• Tabla 22: <i>Supervivencia de los experimentos en relación con el cambio de granja y el sexo.</i>	102
• Tabla 23: <i>Tiempos en minutos referentes a la cirugía.</i>	103
• Tabla 24: <i>Anatomía vascular de los riñones.</i>	104
• Tabla 25: <i>Parámetros anestésicos.</i>	105
• Tabla 26: <i>Resultados de la evolución clínica de los animales durante el postoperatorio.</i>	106

9.6: Documentación propia del estudio

• Permiso de la Comisión de Ética	177
• Ficha quirúrgica	178
• Hoja de recogida de datos anestesia	179
• Plantilla de seguimiento diario	180



Ficha quirúrgica

Cerdo:

Fecha primer tiempo quirúrgico:

Cirujanos:

Hora inicio anestesia :

Hora inicio canulación:

Hora final canulación:

Hora inicio de la cirugía:

Inicio del neumó:

Presión: mmHg

Características riñón: arteria vena uréter

Hora inicio isquemia caliente:

Final del neumó:

Hora inicio isquemia fría:

Hora inicio sutura venosa:

Hora final sutura venosa:

Hora inicio sutura arterial:

Hora final sutura arterial:

Hora de reperfusión:

Hora final IQ:

Hora extubación:

Observaciones:

Segundo tiempo quirúrgico:

Fecha:

Observaciones:

CONTROL - ANESTESIA

Inicio MPA:

Inicio Induccion:

Inicio Mantenimiento:

Inicio Cirugia:

FASES									
HORA									
TEMPERATURA									

FC									
PAP									
PVC									
Flujo A.hepatica									
Flujo V.porta									
DIURESIS ml									

PH									
PCO2									
PO2									
SaO2									
HCO3									
Htc									
Na+									
K+									
Ca									
Glucosa									
Urea									
Creatinina									

Sangrado									
Cristaloides									
Coloides									
Sangre									

Características:	Día 1	2	3	6	7
Aspecto general: bueno/regular/comatoso					
Postura: normal/anormal(encurvado)					
Come: si/no					
Bebe: si/no					
Aspecto de las heces:					
Vocalizaciones: no/si (tipo, durante la palpación)					
Estado de las suturas: bueno/regular/malo					
Hemorragias: si/no					
Movilidad: buena/regular/mala					
Nivel de alerta: alto/regular/bajo					
Comportamiento ante estímulos externos: agresividad/excitación/indiferente					
Tª rectal: normal/hipotermia/hipertermia					
Tiempo de perfusión gingival: <1-2"/1-2"/>1-2"					
Color de las mucosas ocular y bucal: rosadas/blanquecina/violáceas					
Frecuencia respiratoria: normal/bradipnea/taquipnea					
Tipo de respiración: normal/forzada					
Ritmo cardíaco: Normal/anormal					
Frecuencia cardíaca:					